

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/001863

International filing date: 23 February 2005 (23.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 009 457.8
Filing date: 27 February 2004 (27.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 08 June 2005 (08.06.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

03. 06. 2005

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung****Aktenzeichen:**

10 2004 009 457.8

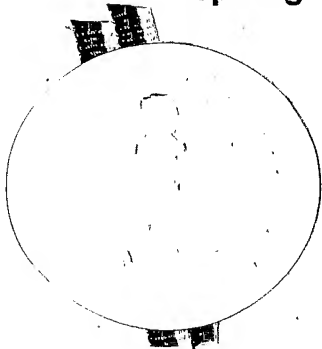
Anmeldetag:

27. Februar 2004

Anmelder/Inhaber:BASF Plant Science GmbH,
67065 Ludwigshafen/DE**Bezeichnung:**Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter
Fettsäuren in transgenen Organismen**IPC:**

C 12 N, C 12 P

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.



München, den 11. Mai 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Brosig

Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in transgenen Organismen

Beschreibung

5 Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus, indem Nukleinsäuren in den Organismus eingebracht werden, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide der Biosynthese des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren, in dem Organismus exprimiert werden. Besonders vorteilhaft sind Nukleinsäuresequenzen, die für eine Δ -6-Elongaseaktivität codieren. 10 Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triacylglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

15 Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem in einer bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Herstellung von ungesättigten ω -3 Fettsäuren sowie ein Verfahren zur Herstellung von Triglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, besonders von ω -3 Fettsäuren mit mehr als drei Doppelbindungen. Die Erfindung betrifft die Herstellung eines transgenen Organismus bevorzugt einer transgenen Pflanze oder eines transgenen Mikroorganismus mit erhöhtem Gehalt an ungesättigten 20 ω -3-Fettsäuren, Ölen oder Lipiden mit ω -3-Doppelbindungen aufgrund der Expression einer ω -3-Desaturase aus Pilzen der Familie Pythiaceae wie der Gattung Phytophthora beispielsweise der Gattung und Art Phytophthora infestans.

25 Die Erfindung betrifft weiterhin die Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte, Vektoren und Organismen enthaltend die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Vektoren enthaltend die Nukleinsäuresequenzen und/oder die Nukleinsäurekonstrukte sowie transgene Organismen enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte und/oder Vektoren.

30 Ein weiterer Teil der Erfindung betrifft Öle, Lipide und/oder Fettsäuren hergestellt nach dem erfindungsgemäßen Verfahren und deren Verwendung. Außerdem betrifft die Erfindung ungesättigte Fettsäuren sowie Triglyceride mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und deren Verwendung.

Fettsäuren und Triacylglyceride haben eine Vielzahl von Anwendungen in der Lebensmittelindustrie, der Tierernährung, der Kosmetik und im Pharmabereich. Je nachdem, ob es sich um freie gesättigte und ungesättigte Fettsäuren oder um 35 Triacylglyceride mit einem erhöhten Gehalt an gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren handelt, sind sie für die unterschiedlichsten Anwendungen geeignet. Mehrfach- ungesättigte Fettsäuren wie Linol- und Linolensäure sind für Säugetiere essentiell, da sie nicht von diesen selbst hergestellt werden können. Deshalb stellen mehrfach ungesättigte ω -3-Fettsäuren und ω -6-Fettsäuren einen wichtigen Bestandteil der 40 tierischen und menschlichen Nahrung dar.

Mehrfach ungesättigte langkettige ω -3-Fettsäuren wie Eicosapentaensäure (= EPA, C20:5 ^{Δ 5,8,11,14,17}) oder Docosahexaensäure (= DHA, C22:6 ^{Δ 4,7,10,13,16,19}) sind wichtige Komponenten der menschlichen Ernährung aufgrund ihrer verschiedenen Rollen in der Gesundheit, die Aspekte wie die Entwicklung des kindlichen Gehirns, der Funktionalität des Auges, der Synthese von Hormonen und anderer Signalstoffe, sowie die Vor-

5 beugung von Herz-Kreislauf-Beschwerden, Krebs und Diabetes umfassen (Poulos, A Lipids 30:1-14, 1995; Horrocks, LA und Yeo YK Pharmacol Res 40:211-225, 1999). Es besteht aus diesem Grund ein Bedarf an der Produktion mehrfach ungesättigter langkettiger Fettsäuren.

10 Aufgrund der heute üblichen Zusammensetzung der menschlichen Nahrung ist ein Zusatz von mehrfach ungesättigten ω -3-Fettsäuren, die bevorzugt in Fischölen vorkommen, zur Nahrung besonders wichtig. So werden beispielsweise mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Docosahexaensäure (= DHA, C22:6 ^{Δ 4,7,10,13,16,19}) oder Eicosapentaensäure (= EPA, C20:5 ^{Δ 5,8,11,14,17}) Babynahrung zur Erhöhung des Nährwertes zugesetzt. Der ungesättigten Fettsäure DHA wird dabei ein positiver Effekt auf die

15 Entwicklung und Aufrechterhaltung von Gehirnfunktionen zugeschrieben.

Im folgenden werden mehrfach ungesättigte Fettsäuren als PUFA, PUFAs, LCPUFA oder LCPUFAs bezeichnet (poly unsaturated fatty acids, PUFA, mehrfach ungesättigte Fettsäuren; long chain poly unsaturated fatty acids, LCPUFA, langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren).

20

Hauptsächlich werden die verschiedenen Fettsäuren und Triglyceride aus Mikroorganismen wie Mortierella oder Schizochytrium oder aus Öl-produzierenden Pflanzen wie Soja, Raps, Algen wie Crypthecodinium oder Phaeodactylum und weiteren gewonnen, wobei sie in der Regel in Form ihrer Triacylglyceride (= Triglyceride = Tri-

25 glycerole) anfallen. Sie können aber auch aus Tieren wie z.B. Fischen gewonnen werden. Die freien Fettsäuren werden vorteilhaft durch Verseifung hergestellt. Sehr langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie DHA, EPA, Arachidonsäure (= ARA, C20:4 ^{Δ 5,8,11,14}), Dihomo- γ -linolensäure (C20:3 ^{Δ 8,11,14}) oder Docosapentaensäure (DPA, C22:5 ^{Δ 7,10,13,16,19}) werden in Ölfuchtpflanzen wie Raps, Soja, Sonnenblume, Färber-

30 saflor nicht synthetisiert. Übliche natürliche Quellen für diese Fettsäuren sind Fische wie Hering, Lachs, Sardine, Goldbarsch, Aal, Karpfen, Forelle, Heilbutt, Makrele, Zander oder Thunfisch oder Algen.

Je nach Anwendungszweck werden Öle mit gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren bevorzugt. So werden z.B. in der humanen Ernährung Lipide mit ungesättigten Fettsäuren speziell mehrfach ungesättigten Fettsäuren bevorzugt. Den mehrfach ungesättigten ω -3-Fettsäuren wird dabei ein positiver Effekt auf den Cholesterinspiegel im Blut und damit auf die Möglichkeit der Prävention einer Herzerkrankung zugeschrieben. Durch Zugabe dieser ω -3-Fettsäuren zur Nahrung kann das Risiko einer Herzerkrankung, eines Schlaganfalls oder von Bluthochdruck deutlich verringert

35 werden. Auch entzündliche speziell chronisch entzündliche Prozesse im Rahmen immunologischer Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis lassen sich durch ω -3-

40

Fettsäuren positiv beeinflussen. Sie werden deshalb Lebensmitteln speziell diätischen Lebensmitteln zugegeben oder finden in Medikamenten Anwendung. ω -6-Fettsäuren wie Arachidonsäure haben bei diesen rheumatischen Erkrankungen aufgrund unserer üblichen Nahrungsmittelzusammensetzung eher einen negativen Effekt auf diese Krankheiten.

ω -3- und ω -6-Fettsäuren sind Vorläufer von Gewebshormonen, den sogenannten Eicosanoiden wie den Prostaglandinen, die sich von der Dihomo- γ -linolensäure, der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten, den Thromoxanen und Leukotrienen, die sich von der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten. Eicosanoide (sog. PG₂-Serie), die aus ω -6-Fettsäuren gebildet werden fördern in der Regel Entzündungsreaktionen, während Eicosanoide (sog. PG₃-Serie) aus ω -3-Fettsäuren geringe oder keine entzündungsfördernde Wirkung haben.

Aufgrund ihrer positiven Eigenschaften hat es in der Vergangenheit nicht an Ansätzen gefehlt, Gene, die an der Synthese von Fettsäuren bzw. Triglyceriden beteiligt sind, für die Herstellung von Ölen in verschiedenen Organismen mit geändertem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren verfügbar zu machen. So wird in WO 91/13972 und seinem US-Äquivalent eine Δ -9-Desaturase beschrieben. In WO 93/11245 wird eine Δ -15-Desaturase in WO 94/11516 wird eine Δ -12-Desaturase beansprucht. Weitere Desaturasen werden beispielsweise in EP-A-0 550 162, WO 94/18337, WO 97/30582, WO 97/21340, WO 95/18222, EP-A-0 794 250, Stukey et al., J. Biol. Chem., 265, 1990: 20144-20149, Wada et al., Nature 347, 1990: 200-203 oder Huang et al., Lipids 34, 1999: 649-659 beschrieben. Die biochemische Charakterisierung der verschiedenen Desaturasen ist jedoch bisher nur unzureichend erfolgt, da die Enzyme als membrangebundene Proteine nur sehr schwer zu isolieren und zu charakterisieren sind (McKeon et al., Methods in Enzymol. 71, 1981: 12141-12147, Wang et al., Plant Physiol. Biochem., 26, 1988: 777-792). In der Regel erfolgt die Charakterisierung membrangebundener Desaturasen durch Einbringung in einen geeigneten Organismus, der anschließend auf Enzymaktivität mittels Edukt- und Produktanalyse untersucht wird. Δ -6-Desaturasen werden in WO 93/06712, US 5,614,393, US5614393, WO 96/21022, WO00/21557 und WO 99/27111 beschrieben und auch die Anwendung zur Produktion in transgenen Organismen beschrieben wie in WO98/46763 WO98/46764, WO98/46765. Dabei wird auch die Expression verschiedener Desaturasen wie in WO99/64616 oder WO98/46776 und Bildung polyungesättigter Fettsäuren beschrieben und beansprucht. Bzgl. der Effektivität der Expression von Desaturasen und ihren Einfluss auf die Bildung polyungesättigter Fettsäuren ist anzumerken, dass durch Expression einer einzelnen Desaturase wie bisher beschrieben lediglich geringe Gehalte an ungesättigten Fettsäuren/Lipiden wie z.B. γ -Linolensäure und Stearidonsäure erreicht wurden. Weiterhin wurde in der Regel ein Gemisch aus ω -3- und ω -6-Fettsäuren erhalten.

Besonders geeignete Mikroorganismen zur Herstellung von PUFAs sind Mikroorganismen wie Mikroalgen wie Phaeodactylum tricornutum, Porphyridium-Arten, Thraustochytrien-Arten, Schizochytrien-Arten oder Crypthecodinium-Arten, Ciliaten,

wie *Stylonychia* oder *Colpidium*, Pilze, wie *Mortierella*, *Entomophthora* oder *Mucor* und/oder Moosen wie *Physcomitrella*, *Ceratodon* und *Marchantia* (R. Vazhappilly & F. Chen (1998) *Botanica Marina* 41: 553-558; K. Totani & K. Oba (1987) *Lipids* 22: 1060-1062; M. Akimoto et al. (1998) *Appl. Biochemistry and Biotechnology* 73: 269-278).

- 5 Durch Stammselektion ist eine Anzahl von Mutantenstämmen der entsprechenden Mikroorganismen entwickelt worden, die eine Reihe wünschenswerter Verbindungen, einschließlich PUFAs, produzieren. Die Mutation und Selektion von Stämmen mit verbesserter Produktion eines bestimmten Moleküls wie den mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist jedoch ein zeitraubendes und schwieriges Verfahren. Deshalb werden,
- 10 wenn immer möglich wie oben beschrieben gentechnologische Verfahren bevorzugt. Mit Hilfe der vorgenannten Mikroorganismen lassen sich jedoch nur begrenzte Mengen der gewünschten mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie DPA, EPA oder ARA herstellen. Wobei diese in der Regel je nach verwendeten Mikroorganismus als Fettsäuregemische aus beispielsweise EPA, DPA und ARA anfallen.

- 15 Für die Synthese von Arachidonsäure, Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) werden verschiedene Synthesewege diskutiert (Figur. 1). So erfolgt die Produktion von EPA bzw. DHA in marinen Bakterien wie *Vibrio* sp. oder *Shewanella* sp. nach dem Polyketid-Weg (Yu, R. et al. *Lipids* 35:1061-1064, 2000; Takeyama, H. et al. *Microbiology* 143:2725-2731, 1997).

- 20 Ein alternative Strategie verläuft über die wechselnde Aktivität von Desaturasen und Elongasen (Zank, T.K. et al. *Plant Journal* 31:255-268, 2002; Sakuradani, E. et al. *Gene* 238:445-453, 1999). Eine Modifikation des beschriebenen Weges über $\Delta 6$ -Desaturase, $\Delta 6$ -Elongase, $\Delta 5$ -Desaturase, $\Delta 5$ -Elongase, $\Delta 4$ -Desaturase ist der Sprecher-Syntheseweg (Sprecher 2000, *Biochim. Biophys. Acta* 1486:219-231) in
- 25 Säugetieren. Anstelle der $\Delta 4$ -Desaturierung erfolgt hier ein weiterer Elongationsschritt auf C24, eine weitere $\Delta 6$ -Desaturierung und abschliessend eine β -Oxidation auf die C22-Kettenlänge. Für die Herstellung in Pflanzen und Mikroorganismen ist der sogenannte Sprecher-Syntheseweg (siehe Figur 1) allerdings nicht geeignet, da die Regulationsmechanismen nicht bekannt sind.

- 30 Die polyungesättigten Fettsäuren können entsprechend ihrem Desaturierungsmuster in zwei große Klassen, in ω -6- oder ω -3-Fettsäuren eingeteilt werden, die metabolisch und funktionell unterschiedlich Aktivitäten haben (Fig. 1).

- 35 Als Ausgangsprodukt für den ω -6-Stoffwechselweg fungiert die Fettsäure Linolsäure ($18:2^{\Delta 9,12}$), während der ω -3-Weg über Linolensäure ($18:3^{\Delta 9,12,15}$) abläuft. Linolensäure wird dabei durch Aktivität einer ω -3-Desaturase gebildet (Tocher et al. 1998, *Prog. Lipid Res.* 37, 73-117 ; Domergue et al. 2002, *Eur. J. Biochem.* 269, 4105-4113).

- 40 Säugetiere und damit auch der Mensch verfügen über keine entsprechende Desaturaseaktivität (Δ -12- und ω -3-Desaturase) und müssen diese Fettsäuren (essentielle Fettsäuren) über die Nahrung aufnehmen. Über die Abfolge von Desaturase- und Elongase-Reaktionen werden dann aus diesen Vorstufen die physiologisch wichtigen polyungesättigten Fettsäuren Arachidonsäure (= ARA, $20:4^{\Delta 5,8,11,14}$), eine ω -6-Fettsäure

und die beiden ω -3-Fettsäuren Eicosapentaen- (= EPA, $20:5^{\Delta 5,8,11,14,17}$) und Docosahexaensäure (DHA, $22:6^{\Delta 4,7,10,13,17,19}$) synthetisiert. Die Applikation von ω -3-Fettsäuren zeigt dabei die wie oben beschriebene therapeutische Wirkung bei der Behandlung von Herz-Kreislaufkrankheiten (Shimikawa 2001, World Rev. Nutr. Diet. 88, 100-108), Entzündungen (Calder 2002, Proc. Nutr. Soc. 61, 345-358) und Arthritis (Cleland und James 2000, J. Rheumatol. 27, 2305-2307).

Aus ernährungsphysiologischer Sicht ist es deshalb wichtig bei der Synthese mehrfach ungesättigter Fettsäuren eine Verschiebung zwischen dem ω -6-Syntheseweg und dem ω -3-Syntheseweg (siehe Figur 1) zu erreichen, so dass mehr ω -3-Fettsäuren hergestellt werden. In der Literatur wurden die enzymatischen Aktivitäten verschiedener ω -3-Desaturasen beschrieben, die $C_{18:2}$, $C_{22:4}$ oder $C_{22:5}$ -Fettsäuren desaturieren (siehe Figur 1). Keine der biochemisch beschriebenen Desaturasen setzt jedoch ein breites Substratspektrum des ω -6-Synthesewegs zu den entsprechenden Fettsäuren des ω -3-Syntheseweg um.

Es besteht daher weiterhin ein großer Bedarf an einer ω -3-Desaturase, die zur Herstellung von ω -3-polyungesättigten Fettsäuren geeignet ist. Alle bekannten pflanzlichen und cyanobakteriellen ω -3-Desaturasen desaturieren C_{18} -Fettsäuren mit Linolsäure als Substrat, können aber keine C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuren desaturieren.

Von dem Pilz *Saprolegnia dicilina* ist eine ω -3-Desaturase bekannt (Pereira et al. 2003, Biochem. J. 2003 Dez, Manuskript BJ20031319), die C_{20} -mehrfach ungesättigte Fettsäuren desaturieren kann. Von Nachteil ist jedoch, dass diese ω -3-Desaturase keine C_{18} - oder C_{22} -PUFAs, wie den wichtigen Fettsäuren $C_{18:2}$, $C_{22:4}$ oder $C_{22:5}$ -Fettsäuren des ω -6-Syntheseweg desaturieren kann. Ein weiterer Nachteil dieses Enzyms ist, dass es keine Fettsäuren desaturieren kann, die an Phospholipide gebunden sind. Es werden nur die CoA-Fettsäureester umgesetzt.

Die Verlängerung von Fettsäuren durch Elongasen um 2 bzw. 4 C-Atome ist für die Produktion von C_{20} - bzw. C_{22} -PUFAs von entscheidender Bedeutung. Dieser Prozess verläuft über 4 Stufen. Der erste Schritt stellt die Kondensation von Malonyl-CoA an das Fettsäure-Acyl-CoA durch die Ketoacyl-CoA-Synthase (KCS, im weiteren Text als Elongase bezeichnet). Es folgt dann ein Reduktionsschritt (Ketoacyl-CoA-Reduktase, KCR), ein Dehydratationsschritt (Dehydratase) und ein abschliessender Reduktionsschritt (enoyl-CoA-Reduktase). Es wurde postuliert, dass die Aktivität der Elongase die Spezifität und Geschwindigkeit des gesamten Prozesses beeinflussen (Millar and Kunst, 1997 Plant Journal 12:121-131).

In der Vergangenheit wurden zahlreiche Versuche unternommen, Elongase Gene zu erhalten. Millar and Kunst, 1997 (Plant Journal 12:121-131) und Millar et al. 1999, (Plant Cell 11:825-838) beschreiben die Charakterisierung von pflanzlichen Elongasen zur Synthese von einfachungesättigten langkettigen Fettsäuren ($C_{22:1}$) bzw. zur Synthese von sehr langkettigen Fettsäuren für die Wachsbildung in Pflanzen (C_{28} - C_{32}). Beschreibungen zur Synthese von Arachidonsäure und EPA finden sich beispielsweise in WO0159128, WO0012720, WO02077213 und WO0208401. Die

Synthese von mehrfach ungesättigter C24 Fettsäuren ist beispielsweise in Tvrdik et al 2000, JCB 149:707-717 oder WO0244320 beschrieben.

Zur Herstellung von DHA (C22:6 n-3) in Organismen, die diese Fettsäure natürlicherweise nicht produzieren, wurde bisher keine spezifische Elongase beschrieben. Bisher wurden nur Elongasen beschrieben, die C20- bzw. C24-Fettsäuren bereitstellen. Eine Δ -5-Elongase-Aktivität wurde bisher noch nicht beschrieben.

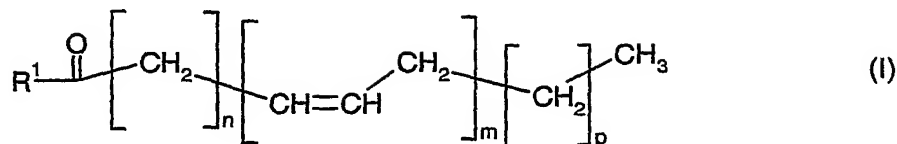
Höhere Pflanzen enthalten mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Linolsäure (C18:2) und Linolensäure (C18:3). ARA, EPA und DHA kommen im Samenöl höherer Pflanzen gar nicht oder nur in Spuren vor (E. Ucciani: Nouveau Dictionnaire des Huiles Végétales. Technique & Documentation – Lavoisier, 1995. ISBN: 2-7430-0009-0). Es wäre jedoch vorteilhaft, in höheren Pflanzen, bevorzugt in Ölsaaten wie Raps, Lein, Sonnenblume und Soja, LCPUFAs herzustellen, da auf diese Weise große Mengen qualitativ hochwertiger LCPUFAs für die Lebensmittelindustrie, die Tierernährung und für pharmazeutische Zwecke kostengünstig gewonnen werden können. Hierzu müssen vorteilhaft über gentechnische Methoden Gene kodierend für Enzyme der Biosynthese von LCPUFAs in Ölsaaten eingeführt und exprimiert werden. Dies sind Gene, die beispielsweise für Δ -6-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase oder Δ -4-Desaturasen codieren. Diese Gene können vorteilhaft aus Mikroorganismen und niederen Pflanzen isoliert werden, die LCPUFAs herstellen und in den Membranen oder Triacylglyceriden einbauen. So konnten bereits Δ -6-Desaturase-Gene aus dem Moos Physcomitrella patens und Δ -6-Elongase-Gene aus P. patens und dem Nematoden C. elegans isoliert.

Erste transgene Pflanzen, die Gene kodierend für Enzyme der LCPUFA-Biosynthese enthalten und exprimieren und LCPUFAs produzieren wurden beispielsweise in DE 102 19 203 (Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Pflanzen) erstmals beschrieben. Diese Pflanzen produzieren allerdings LCPUFAs in Mengen, die für eine Aufarbeitung der in den Pflanzen enthaltenen Öle noch weiter optimiert werden müssen.

Um eine Anreicherung der Nahrung und des Futters mit diesen mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu ermöglichen, besteht daher ein großer Bedarf an einem einfachen, kostengünstigen Verfahren zur Herstellung dieser mehrfach ungesättigten Fettsäuren speziell in eukaryontischen Systemen.

Es bestand daher die Aufgabe weitere Gene bzw. Enzyme, die für die Synthese von LCPUFAs geeignet sind, speziell Gene, die eine Δ -5-Elongaseaktivität aufweisen, für die Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren zur Verfügung zu stellen. Eine weitere Aufgabe dieser Erfindung war die Bereitstellung von Genen bzw. Enzymen, die eine Verschiebung von den ω -6-Fettsäuren zu den ω -3-Fettsäuren hin ermöglichen. Weiterhin bestand die Aufgabe ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus vorteilhaft in einem eukaryontischen Organismus bevorzugt in einer Pflanze oder einem Mikroorganismus zu entwickeln. Diese Aufgabe wurde durch das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I

7

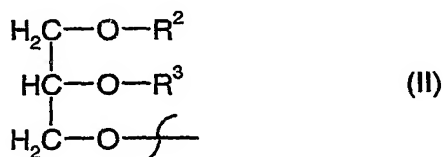


in transgenen Organismen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% dieser Verbindungen bezogen auf den Gesamtlipidgehalt des transgenen Organismus, dadurch gekennzeichnet, dass es folgende Verfahrensschritte umfasst:

- 5 a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -9-Elongase- und/oder eine Δ -6-Desaturase-Aktivität codiert, und
- b) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -8-Desaturase- und/oder eine Δ -6-Elongase-Aktivität codiert, und
- c) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -5-Desaturase-Aktivität codiert, und
- d) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -5-Elongase-Aktivität codiert, und
- e) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -4-Desaturase-Aktivität codiert, und

15 wobei die Variablen und Substituenten in der Formel I die folgende Bedeutung haben:

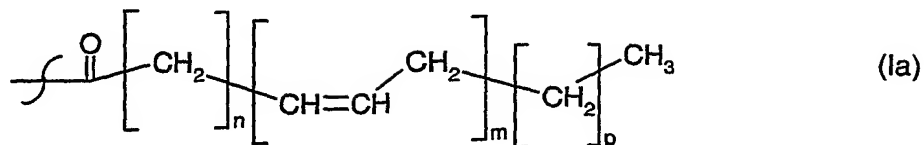
20 $\text{R}^1 =$ Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II



25 $\text{R}^2 =$ Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes oder ungesättigtes $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkyl-carbonyl-,

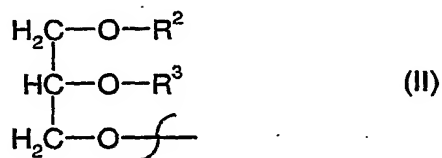
$\text{R}^3 =$ Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-, oder R^2 oder R^3 unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia:

8



$n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 9 , $m = 2, 3, 4, 5$ oder 6 und $p = 0$ oder 3 , gelöst.

- 5 R^1 bedeutet in der allgemeinen Formel I Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II



Die oben genannten Reste von R^1 sind immer in Form ihrer Thioester an die Verbindungen der allgemeinen Formel I gebunden.

- 10 R^2 bedeutet in der allgemeinen Formel II Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-,

- 15 Als Alkylreste seien substituiert oder unsubstituiert, gesättigt oder ungesättigte C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-Ketten wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octylcarbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-,
20 n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl- genannt, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Gesättigte oder ungesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-,
25 n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten, sind bevorzugt. Besonders bevorzugt sind gesättigte und/oder ungesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{10} -Alkylcarbonyl-, C_{11} -Alkylcarbonyl-, C_{12} -Alkylcarbonyl-, C_{13} -Alkylcarbonyl-, C_{14} -Alkylcarbonyl-, C_{16} -Alkylcarbonyl-, C_{18} -Alkylcarbonyl-, C_{20} -Alkylcarbonyl- oder C_{22} -Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere
30 Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C_{16} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{16} -Alkylcarbonyl-, C_{18} -Alkylcarbonyl-, C_{20} -Alkylcarbonyl- oder C_{22} -Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen

enthalten. Diese vorteilhaften Reste können zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten. Die besonders vorteilhaften Reste mit 20 oder 22 Kohlenstoffatomen in der Fettsäurekette enthalten bis zu sechs Doppelbindungen, vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.

R^3 bedeutet in der allgemeinen Formel II Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl.

Als Alkylreste seien substituiert oder unsubstituiert, gesättigt oder ungesättigte C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-Ketten wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octylcarbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl- genannt, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Gesättigte oder ungesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten, sind bevorzugt. Besonders bevorzugt sind gesättigte und/oder ungesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{10} -Alkylcarbonyl-, C_{11} -Alkylcarbonyl-, C_{12} -Alkylcarbonyl-, C_{13} -Alkylcarbonyl-, C_{14} -Alkylcarbonyl-, C_{16} -Alkylcarbonyl-, C_{18} -Alkylcarbonyl-, C_{20} -Alkylcarbonyl- oder C_{22} -Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C_{16} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{16} -Alkylcarbonyl-, C_{18} -Alkylcarbonyl-, C_{20} -Alkylcarbonyl- oder C_{22} -Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Diese vorteilhaften Reste können zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten. Die besonders vorteilhaften Reste mit 20 oder 22 Kohlenstoffatomen in der Fettsäurekette enthalten bis zu sechs Doppelbindungen, vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.

Die oben genannten Reste von R^1 , R^2 und R^3 können mit Hydroxyl- und/oder Epoxygruppen substituierte sein und/oder können Dreifachbindungen enthalten.

Vorteilhaft enthalten die im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren mindestens zwei vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen. Besonders vorteilhaft enthalten die Fettsäuren vier fünf oder sechs Doppelbindungen. Im Verfahren hergestellte Fettsäuren haben vorteilhaft 18-, 20- oder 22-C-Atome in der Fettsäurekette, bevorzugt enthalten die Fettsäuren 20 oder 22 Kohlenstoffatome in der Fettsäurekette. Vorteilhaft werden gesättigte Fettsäuren mit den im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren wenig oder gar nicht umgesetzt. Unter wenig ist zu verstehen, das im Vergleich zu mehrfach ungesättigten Fettsäuren die gesättigten

Fettsäuren mit weniger als 5 % der Aktivität, vorteilhaft weniger als 3 %, besonders vorteilhaft mit weniger als 2 %, ganz besonders bevorzugt mit weniger als 1; 0,5; 0,25 oder 0,125 % umgesetzt werden. Diese hergestellten Fettsäuren können als einziges Produkt im Verfahren hergestellt werden oder in einem Fettsäuregemisch vorliegen.

- 5 Bei den im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen handelt es sich um isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -4-Desaturaseaktivität codieren.

- 10 Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturaseaktivität codieren, verwendet ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Sequenz, oder

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von den in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 dargestellten Aminosäuresequenzen ableiten lassen, oder

- c) Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für

Polypeptide mit mindestens 40 % Identität auf Aminosäureebene mit
 SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10,
 SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20,
 SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30,
 SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40,
 SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50,
 SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64,
 SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74,
 SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84
 oder SEQ ID NO: 86 codieren und eine Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-,
 Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder
 Δ -4-Desaturaseaktivität aufweisen.

Vorteilhaft bedeuten die Substituenten R^2 oder R^3 in den allgemeinen Formeln I und II
 unabhängig voneinander gesättigtes oder ungesättigtes C_{18} - C_{22} -Alkylcarbonyl-,
 besonders vorteilhaft bedeuten sie unabhängig voneinander ungesättigtes C_{18} -, C_{20} -
 oder C_{22} -Alkylcarbonyl- mit mindestens zwei Doppelbindungen.

Eine bevorzugte Ausführungsform des Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass
 eine Nukleinsäuresequenz zusätzlich in den Organismus eingebracht wird, die für Poly-
 peptide mit ω -3-Desaturase-Aktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend
 aus:

- einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 dargestellten
Sequenz, oder
- Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen
Codes von der in SEQ ID NO: 88 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten
lassen, oder
- Derivate der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für
Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit
SEQ ID NO: 88 codieren und eine ω 3-Desaturaseaktivität aufweisen.

Tabelle 1 gibt die Nukleinsäuresequenzen, den Herkunftsorganismus und die
Sequenz-ID-Nummer wieder.

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
1.	Euglena gracilis	Δ -8-Desaturase	SEQ ID NO: 1
2.	Isochrysis galbana	Δ -9-Elongase	SEQ ID NO: 3
3.	Phaeodactylum tricornutum	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 5
4.	Ceratodon purpureus	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 7
5.	Physcomitrella patens	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 9

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
6.	Thraustrochytrium sp.	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 11
7.	Mortierella alpina	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 13
8.	Caenorhabditis elegans	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 15
9.	Borago officinalis	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 17
10.	Ceratodon purpureus	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 19
11.	Phaeodactylum tricornutum	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 21
12.	Physcomitrella patens	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 23
13.	Caenorhabditis elegans	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 25
14.	Physcomitrella patens	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 27
15.	Thraustrochytrium sp.	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 29
16.	Phytophthora infestans	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 31
17.	Mortierella alpina	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 33
18.	Mortierella alpina	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 35
19.	Caenorhabditis elegans	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 37
20.	Euglena gracilis	Δ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 39
21.	Thraustrochytrium sp.	Δ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 41
22.	Thallasiosira pseudonana	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 43
23.	Thallasiosira pseudonana	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 45
24.	Cryptocodinium cohnii	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 47
25.	Cryptocodinium cohnii	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 49
26.	Oncorhynchus mykiss	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 51
27.	Oncorhynchus mykiss	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 53
28.	Thallasiosira pseudonana	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 59
29.	Thallasiosira pseudonana	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 61
30.	Thallasiosira pseudonana	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 63
31.	Thraustrochytrium aureum	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 65
32.	Ostreococcus tauri	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 67
33.	Ostreococcus tauri	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 69
34.	Prímula farinosa	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 71
35.	Primula vialii	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 73

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
36.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 75
37.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 77
38.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 79
39.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 81
40.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 83
41.	<i>Thallasiosira pseudonana</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 85
42.	<i>Phytophthora infestans</i>	ω -3-Desaturase	SEQ ID NO: 87

Die im Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren sind vorteilhaft in Membranlipiden und/oder Triacylglyceriden gebunden, können aber auch als freie Fettsäuren oder aber gebunden in Form anderer Fettsäureester in den Organismen vorkommen. Dabei können sie als "Reinprodukte" oder aber vorteilhaft in Form von Mischungen verschiedener Fettsäuren oder Mischungen unterschiedlicher Glyceride vorliegen. Die in den Triacylglyceriden gebundenen verschiedenen Fettsäuren lassen sich dabei von kurzkettigen Fettsäuren mit 4 bis 6 C-Atomen, mittelkettigen Fettsäuren mit 8 bis 12 C-Atomen oder langkettigen Fettsäuren mit 14 bis 24 C-Atomen ableiten, bevorzugt sind die langkettigen Fettsäuren besonders bevorzugt sind die langkettigen Fettsäuren LCPUFAs von C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuren.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden vorteilhaft Fettsäureester mit mehrfach ungesättigten C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuremolekülen mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäureester, vorteilhaft mit mindestens drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäureester, besonders vorteilhaft von mindestens fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäureester hergestellt und führen vorteilhaft zur Synthese von Linolsäure (=LA, C18:2^{Δ^{9,12}}), γ-Linolensäure (= GLA, C18:3^{Δ^{6,9,12}}), Stearidonsäure (= SDA, C18:4^{Δ^{6,9,12,15}}), Dihomo-γ-Linolensäure (= DGLA, 20:3^{Δ^{8,11,14}}), ω-3-Eicosatetraensäure (= ETA, C20:4^{Δ^{5,8,11,14}}), Arachidonsäure (ARA, C20:4^{Δ^{5,8,11,14}}), Eicosapentaensäure (EPA, C20:5^{Δ^{5,8,11,14,17}}), ω-6-Docosapentaensäure (C22:5^{Δ^{4,7,10,13,16}}), ω-6-Docosatetraensäure (C22:4^{Δ^{7,10,13,16}}), ω-3-Docosapentaensäure (= DPA, C22:5^{Δ^{7,10,13,16,19}}), Docosahexaensäure (= DHA, C22:6^{Δ^{4,7,10,13,16,19}}) oder deren Mischungen, bevorzugt ARA, EPA und/oder DHA. Ganz besonders bevorzugt werden, ω-3-Fettsäuren wie EPA und/oder DHA hergestellt.

Die Fettsäureester mit mehrfach ungesättigten C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuremolekülen können aus den Organismen, die für die Herstellung der Fettsäureester verwendet wurden, in Form eines Öls oder Lipids beispielsweise in Form von Verbindungen wie Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide wie Glycosphingolipide, Phospholipide wie Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylcholin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol oder Diphosphatidylglycerol, Monoacylglyceride, Diacylglyceride, Triacylglyceride oder sonstige Fettsäureester wie die AcetylCoenzymA-Ester, die die mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit mindestens

zwei, drei, vier, fünf oder sechs bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten, isoliert werden, vorteilhaft werden sie in der Form ihrer Diacylglyceride, Triacylglyceride und/oder in Form des Phosphatidylcholin isoliert, besonders bevorzugt in der Form der Triacylglyceride. Neben diesen Estern sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren
5 auch als freie Fettsäuren oder gebunden in anderen Verbindungen in den Organismen vorteilhaft den Pflanzen enthalten. In der Regel liegen die verschiedenen vorgenannten Verbindungen (Fettsäureester und freie Fettsäuren) in den Organismen in einer ungefähren Verteilung von 80 bis 90 Gew.-% Triglyceride, 2 bis 5 Gew.-% Diglyceride, 5 bis 10 Gew.-% Monoglyceride, 1 bis 5 Gew.-% freie Fettsäuren, 2 bis 8 Gew.-% Phospho-
10 lipide vor, wobei sich die Summe der verschiedenen Verbindungen zu 100 Gew.-% ergänzt.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden die hergestellten LCPUFAs mit einem Gehalt von mindestens 3 Gew.-%, vorteilhaft von mindestens 5 Gew.-%, bevorzugt von mindestens 8 Gew.-%, besonders bevorzugt von mindestens 10 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt von mindestens 15 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren in den transgenen Organismen vorteilhaft in einer transgenen Pflanze hergestellt. Dabei werden vorteilhaft C18- und/oder C20-Fettsäuren, die in den Wirtsorganismen vorhanden sind, zu mindestens 10 %, vorteilhaft zu mindestens 20 %, besonders vorteilhaft zu mindestens 30 %, ganz besonders vorteilhaft zu mindestens
20 40 % in die entsprechenden Produkte wie DPA oder DHA, um nur zwei beispielhaft zu nennen, umgesetzt. Vorteilhaft werden die Fettsäuren in gebundener Form hergestellt. Mit Hilfe der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren lassen sich diese ungesättigten Fettsäuren an sn1-, sn2- und/oder sn3-Position der vorteilhaft hergestellten Triglyceride bringen. Da im erfindungsgemäßen Verfahren von den Ausgangsverbindungen Linolsäure (C18:2) bzw. Linolensäure (C18:3) mehrere Reaktions-
25 schritte durchlaufen werden, fallen die Endprodukte des Verfahrens wie beispielsweise Arachidonsäure (ARA), Eicosapentaensäure (EPA), ω -6-Docosapentaensäure oder DHA nicht als absolute Reinprodukte an, es sind immer auch geringe Spuren der Vorstufen im Endprodukt enthalten. Sind in dem Ausgangsorganismus bzw. in der Ausgangspflanze beispielsweise sowohl Linolsäure als auch Linolensäure vorhanden, so liegen die Endprodukte wie ARA, EPA oder DHA als Mischungen vor. Die Vorstufen sollten vorteilhaft nicht mehr als 20 Gew.-%, bevorzugt nicht mehr als 15 Gew.-%, besonders bevorzugt nicht als 10 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt nicht mehr als 5 Gew.-% bezogen auf die Menge des jeweiligen Endprodukts betragen. Vorteilhaft
30 werden in einer transgenen Pflanze als Endprodukte nur ARA, EPA oder nur DHA im erfindungsgemäßen Verfahren gebunden oder als freie Säuren hergestellt. Werden die Verbindungen ARA, EPA und DHA gleichzeitig hergestellt, werden sie vorteilhaft in einem Verhältnis von mindesten 1:1:2 (EPA:ARA:DHA), vorteilhaft von mindestens 1:1:3, bevorzugt von 1:1:4, besonders bevorzugt von 1:1:5 hergestellt.

40 Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, enthalten vorteilhaft 6 bis 15 % Palmitinsäure, 1 bis 6 % Stearinsäure; 7 – 85 % Ölsäure; 0,5 bis 8 % Vaccensäure, 0,1 bis 1 % Arachinsäure, 7 bis 25 % gesättigte Fettsäuren, 8 bis 85 % einfach ungesättigte Fettsäuren und 60 bis

15

85 % mehrfach ungesättigte Fettsäuren jeweils bezogen auf 100 % und auf den Gesamtfettsäuregehalt der Organismen. Als vorteilhafte mehrfach ungesättigte Fettsäure sind in den Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische bevorzugt mindestens 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 oder 1 % bezogen auf den Gesamtfettsäuregehalt an Arachidonsäure enthalten. Weiterhin enthalten die Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, vorteilhaft Fettsäuren ausgewählt aus der Gruppe der Fettsäuren Erucasäure (13-Docosaensäure), Sterculinsäure (9,10-Methylene octadec-9-enonsäure), Malvalinsäure (8,9-Methylen Heptadec-8-enonsäure), Chaulmoogrinsäure (Cyclopenten-dodecansäure), Furan-Fettsäure (9,12-Epoxy-octadeca-9,11-dienonsäure), Vernonsäure (9,10-Epoxyoctadec-12-enonsäure), Tarinsäure (6-Octadecynonsäure), 6-Nona-decynonsäure, Santalbinsäure (11-Octadecen-9-ynoic acid), 6,9-Octadecenynnon-säure, Pyrulinsäure (10-Heptadecen-8-ynonsäure), Crepenyninsäure (9-Octadecen-12-ynonsäure), 13,14-Dihydrooropheinsäure, Octadecen-13-ene-9,11-diynonsäure, Petroselensäure (cis-6-Octadecenonsäure), 9c,12t-Octadecadiensäure, Calendula-säure (8t10t12c-Octadecatriensäure), Catalpinsäure (9t11t13c-Octadecatriensäure), Eleosterinsäure (9c11t13t-Octadecatriensäure), Jacarinsäure (8c10t12c-Octadeca-triensäure), Punicinsäure (9c11t13c-Octadecatriensäure), Parinarinsäure (9c11t13t15c-Octadecatetraensäure), Pinolensäure (all-cis-5,9,12-Octadecatriensäure), Laballen-säure (5,6-Octadecadienallensäure), Ricinolsäure (12-Hydroxyölsäure) und/oder Coriolinsäure (13-Hydroxy-9c,11t-Octadecadienonsäure). Vorteilhaft enthalten die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fett-säuregemische weniger als 0,1 % bezogen auf die Gesamtfettsäuren oder keine Buttersäure, kein Cholesterin, keine Clupanodonsäure (= Docosapentaensäure, C22:5^{Δ4,8,12,15,21}) sowie keine Nisinsäure (Tetracosahexaensäure, C23:6^{Δ3,8,12,15,18,21}).

Durch die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen bzw. im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen kann eine Steigerung der Ausbeute an mehrfach ungesättigten Fettsäuren von mindestens 50 %, vorteilhaft von mindestens 80 %, besonders vorteilhaft von mindestens 100 %, ganz besonders vorteilhaft von mindestens 150 % gegenüber den nicht transgenen Ausgangsorganismus beispielsweise einer Hefe, einer Alge, einem Pilz oder einer Pflanze wie Arabidopsis oder Lein beim Vergleich in der GC-Analyse siehe Beispiele erreicht werden.

Auch chemisch reine mehrfach ungesättigte Fettsäuren oder Fettsäurezusammensetzungen sind nach den vorbeschriebenen Verfahren darstellbar. Dazu werden die Fettsäuren oder die Fettsäurezusammensetzungen aus dem Organismus wie den Mikroorganismen oder den Pflanzen oder dem Kulturmedium, in dem oder auf dem die Organismen angezogen wurden, oder aus dem Organismus und dem Kulturmedium in bekannter Weise beispielsweise über Extraktion, Destillation, Kristallisation, Chromatographie oder Kombinationen dieser Methoden isoliert. Diese chemisch reinen Fettsäuren oder Fettsäurezusammensetzungen sind für Anwendungen im Bereich der Lebensmittelindustrie, der Kosmetikindustrie und besonders der Pharmaindustrie vorteilhaft.

Als Organismus für die Herstellung im erfindungsgemäßen Verfahren kommen prinzipiell alle Organismen wie Mikroorganismen, nicht-humane Tiere oder Pflanzen in Frage.

- 5 Als Pflanzen kommen prinzipiell alle Pflanzen in Frage, die in der Lage sind Fettsäuren zu synthetisieren wie alle dicotylen oder monokotylen Pflanzen, Algen oder Moose. Vorteilhaft Pflanzen sind ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzenfamilien Adelotheceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Betulaceae, Boraginaceae, Brassica-
- 10 biaceae, Bromeliaceae, Caricaceae, Cannabaceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae, Crypthecodiniaceae, Cucurbitaceae, Ditrachaceae, Elaeagnaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Gramineae, Juglandaceae, Lauraceae, Leguminosae, Linaceae, Prasinophyceae oder Gemüsepflanzen oder Zierpflanzen wie Tagetes in Betracht.

- Beispielhaft seien die folgenden Pflanzen genannt ausgewählt aus der Gruppe: Adelotheceae wie die Gattungen *Physcomitrella* z.B. die Gattung und Arten *Physcomitrella patens*, Anacardiaceae wie die Gattungen *Pistacia*, *Mangifera*, *Anacardium* z.B. die Gattung und Arten *Pistacia vera* [Pistazie], *Mangifer indica* [Mango] oder *Anacardium occidentale* [Cashew], Asteraceae wie die Gattungen *Calendula*, *Carthamus*, *Centaurea*, *Cichorium*, *Cynara*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Locusta*, *Tagetes*, *Valeriana* z.B. die Gattung und Arten *Calendula officinalis* [Garten-Ringelblume], *Carthamus tinctorius* [Färberdistel, safflower], *Centaurea cyanus* [Kornblume], *Cichorium intybus* [Wegwarte], *Cynara scolymus* [Artichoke], *Helianthus annuus* [Sonnenblume], *Lactuca sativa*, *Lactuca crisper*, *Lactuca esculenta*, *Lactuca scariola* L. ssp. *sativa*, *Lactuca scariola* L. var. *integrata*, *Lactuca scariola* L. var. *integrifolia*, *Lactuca sativa* subsp. *romana*, *Locusta communis*, *Valeriana locusta* [Salat], *Tagetes lucida*, *Tagetes erecta* oder
- 20 *Tagetes tenuifolia* [Studentenblume], Apiaceae wie die Gattung *Daucus* z.B. die Gattung und Art *Daucus carota* [Karotte], Betulaceae wie die Gattung *Corylus* z.B. die Gattungen und Arten *Corylus avellana* oder *Corylus colurna* [Haselnuss], Boraginaceae wie die Gattung *Borago* z.B. die Gattung und Art *Borago officinalis* [Borretsch], Brassicaceae wie die Gattungen *Brassica*, *Melanosinapis*, *Sinapis*, *Arabadopsis* z.B. die Gattungen und Arten *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [Raps], *Sinapis arvensis* *Brassica juncea*, *Brassica juncea* var. *juncea*, *Brassica juncea* var. *crispifolia*, *Brassica juncea* var. *foliosa*, *Brassica nigra*, *Brassica sinapioides*, *Melanosinapis communis* [Senf], *Brassica oleracea* [Futerrübe] oder *Arabidopsis thaliana*, Bromeliaceae wie die
- 25 Gattungen *Anana*, *Bromelia* (Ananas) z.B. die Gattungen und Arten *Anana comosus*, *Ananas ananas* oder *Bromelia comosa* [Ananas], Caricaceae wie die Gattung *Carica* wie die Gattung und Art *Carica papaya* [Papaya], Cannabaceae wie die Gattung *Cannabis* wie die Gattung und Art *Cannabis sativa* [Hanf], Convolvulaceae wie die Gattungen *Ipomea*, *Convolvulus* z.B. die Gattungen und Arten *Ipomoea batatas*, *Ipomoea pandurata*, *Convolvulus batatas*, *Convolvulus tiliaceus*, *Ipomoea fastigiata*, *Ipomoea tiliacea*, *Ipomoea triloba* oder *Convolvulus panduratus* [Süßkartoffel, Batate],
- 30 *Chenopodiaceae* wie die Gattung *Beta* wie die Gattungen und Arten *Beta vulgaris*, *Beta vulgaris* var. *altissima*, *Beta vulgaris* var. *Vulgaris*, *Beta maritima*, *Beta vulgaris* var. *perennis*, *Beta vulgaris* var. *conditiva* oder *Beta vulgaris* var. *esculenta* [Zucker-
- 35 40

- rübe], Crypthecodiniaceae wie die Gattung Crypthecodinium z.B. die Gattung und Art *Cryptecodinium cohnii*, Cucurbitaceae wie die Gattung Cucurbita z.B. die Gattungen und Arten *Cucurbita maxima*, *Cucurbita mixta*, *Cucurbita pepo* oder *Cucurbita moschata* [Kürbis], Cymbellaceae wie die Gattungen Amphora, Cymbella, Okedenia,
- 5 Phaeodactylum, Reimeria z.B. die Gattung und Art *Phaeodactylum tricornutum*, Ditrachaceae wie die Gattungen Ditrachaceae, Astomiopsis, Ceratodon, Chrysoblastella, Ditrachum, Distichium, Eccremidium, Lophidion, Philibertiella, Pleuridium, Saelania, Trichodon, Skottsbergia z.B. die Gattungen und Arten *Ceratodon antarcticus*, *Ceratodon columbiae*, *Ceratodon heterophyllus*, *Ceratodon purpurascens*, *Ceratodon*
- 10 *purpureus*, *Ceratodon purpureus* ssp. *convolutus*, *Ceratodon purpureus* ssp. *stenocarpus*, *Ceratodon purpureus* var. *rotundifolius*, *Ceratodon ratodon*, *Ceratodon stenocarpus*, *Chrysoblastella chilensis*, *Ditrachum ambiguum*, *Ditrachum brevisetum*, *Ditrachum crispatisimum*, *Ditrachum difficile*, *Ditrachum falcifolium*, *Ditrachum flexicaule*, *Ditrachum giganteum*, *Ditrachum heteromallum*, *Ditrachum lineare*, *Ditrachum lineare*,
- 15 *Ditrachum montanum*, *Ditrachum montanum*, *Ditrachum pallidum*, *Ditrachum punctulatum*, *Ditrachum pusillum*, *Ditrachum pusillum* var. *tortile*, *Ditrachum rhynchostegium*, *Ditrachum schimperii*, *Ditrachum tortile*, *Distichium capillaceum*, *Distichium hagenii*, *Distichium inclinatum*, *Distichium macounii*, *Eccremidium floridanum*, *Eccremidium whiteleggei*, *Lophidion strictus*, *Pleuridium acuminatum*, *Pleuridium alternifolium*, *Pleuridium*
- 20 *holdridgei*, *Pleuridium mexicanum*, *Pleuridium ravenelii*, *Pleuridium subulatum*, *Saelania glaucescens*, *Trichodon borealis*, *Trichodon cylindricus* oder *Trichodon cylindricus* var. *oblongus*, Elaeagnaceae wie die Gattung Elaeagnus z.B. die Gattung und Art *Olea europaea* [Olive], Ericaceae wie die Gattung Kalmia z.B. die Gattungen und Arten *Kalmia latifolia*, *Kalmia angustifolia*, *Kalmia microphylla*, *Kalmia polifolia*,
- 25 *Kalmia occidentalis*, *Cistus chamaerhodendros* oder *Kalmia lucida* [Berglorbeer], Euphorbiaceae wie die Gattungen Manihot, Janipha, Jatropha, Ricinus z.B. die Gattungen und Arten *Manihot utilissima*, *Janipha manihot*, *Jatropha manihot*, *Manihot aipii*, *Manihot dulcis*, *Manihot manihot*, *Manihot melanobasis*, *Manihot esculenta* [Manihot] oder *Ricinus communis* [Rizinus], Fabaceae wie die Gattungen Pisum,
- 30 *Albizia*, *Cathormion*, *Feuillea*, *Inga*, *Pithecolobium*, *Acacia*, *Mimosa*, *Medicago*, *Glycine*, *Dolichos*, *Phaseolus*, *Soja* z.B. die Gattungen und Arten *Pisum sativum*, *Pisum arvense*, *Pisum humile* [Erbse], *Albizia berteriana*, *Albizia julibrissin*, *Albizia lebbeck*, *Acacia berteriana*, *Acacia littoralis*, *Albizia berteriana*, *Albizia berteriana*, *Cathormion berteriana*, *Feuillea berteriana*, *Inga fragrans*, *Pithecellobium berterianum*, *Pithecellobium*
- 35 *fragrans*, *Pithecolobium berterianum*, *Pseudalbizzia berteriana*, *Acacia julibrissin*, *Acacia nemu*, *Albizia nemu*, *Feuillea julibrissin*, *Mimosa julibrissin*, *Mimosa speciosa*, *Sericanrda julibrissin*, *Acacia lebbeck*, *Acacia macrophylla*, *Albizia lebbeck*, *Feuillea lebbeck*, *Mimosa lebbeck*, *Mimosa speciosa* [Seidenbaum], *Medicago sativa*, *Medicago falcata*, *Medicago varia* [Alfalfa] *Glycine max* *Dolichos soja*, *Glycine gracilis*, *Glycine*
- 40 *hispida*, *Phaseolus max*, *Soja hispida* oder *Soja max* [Sojabohne], Funariaceae wie die Gattungen Aphanorrhagma, Entosthodon, Funaria, Physcomitrella, Physcomitrium z.B. die Gattungen und Arten *Aphanorrhagma serratum*, *Entosthodon attenuatus*, *Entosthodon bolanderi*, *Entosthodon bonplandii*, *Entosthodon californicus*, *Entosthodon drummondii*, *Entosthodon jamesonii*, *Entosthodon leibergii*, *Entosthodon neoscoticus*,
- 45 *Entosthodon rubrisetus*, *Entosthodon spathulifolius*, *Entosthodon tucsoni*, *Funaria*

- americana*, *Funaria bolanderi*, *Funaria calcarea*, *Funaria californica*, *Funaria calvescens*, *Funaria convoluta*, *Funaria flavicans*, *Funaria groutiana*, *Funaria hygrometrica*, *Funaria hygrometrica* var. *arctica*, *Funaria hygrometrica* var. *calvescens*, *Funaria hygrometrica* var. *convoluta*, *Funaria hygrometrica* var. *muralis*, *Funaria hygrometrica* var. *utahensis*, *Funaria microstoma*, *Funaria microstoma* var. *obtusifolia*, *Funaria muhlenbergii*, *Funaria orcuttii*, *Funaria plano-convexa*, *Funaria polaris*, *Funaria ravenelii*, *Funaria rubriseta*, *Funaria serrata*, *Funaria sonora*, *Funaria sublimbatus*, *Funaria tucsoni*, *Physcomitrella californica*, *Physcomitrella patens*, *Physcomitrella readeri*, *Physcomitrium australe*, *Physcomitrium californicum*, *Physcomitrium collenchymatum*, *Physcomitrium coloradense*, *Physcomitrium cupuliferum*, *Physcomitrium drummondii*, *Physcomitrium eurytostomum*, *Physcomitrium flexifolium*, *Physcomitrium hookeri*, *Physcomitrium hookeri* var. *serratum*, *Physcomitrium immersum*, *Physcomitrium kellermanii*, *Physcomitrium megalocarpum*, *Physcomitrium pyriforme*, *Physcomitrium pyriforme* var. *serratum*, *Physcomitrium rufipes*, *Physcomitrium sandbergii*, *Physcomitrium subsphaericum*, *Physcomitrium washingtoniense*, Geraniaceae wie die Gattungen *Pelargonium*, *Cocos*, *Oleum* z.B. die Gattungen und Arten *Cocos nucifera*, *Pelargonium grossularioides* oder *Oleum cocois* [Kokussuss], Gramineae wie die Gattung *Saccharum* z.B. die Gattung und Art *Saccharum officinarum*, Juglandaceae wie die Gattungen *Juglans*, *Wallia* z.B. die Gattungen und Arten *Juglans regia*, *Juglans ailanthifolia*, *Juglans sieboldiana*, *Juglans cinerea*, *Wallia cinerea*, *Juglans bixbyi*, *Juglans californica*, *Juglans hindsii*, *Juglans intermedia*, *Juglans jamaicensis*, *Juglans major*, *Juglans microcarpa*, *Juglans nigra* oder *Wallia nigra* [Walnuss], Lauraceae Wie die Gattungen *Persea*, *Laurus* z.B. die Gattungen und Arten *Laurus nobilis* [Lorbeer], *Persea americana*, *Persea gratissima* oder *Persea persea* [Avocado], Leguminosae wie die Gattung *Arachis* z.B. die Gattung und Art *Arachis hypogaea* [Erdnuss], Linaceae wie die Gattungen *Linum*, *Adenolinum* z.B. die Gattungen und Arten *Linum usitatissimum*, *Linum humile*, *Linum austriacum*, *Linum bienne*, *Linum angustifolium*, *Linum catharticum*, *Linum flavum*, *Linum grandiflorum*, *Adenolinum grandiflorum*, *Linum lewisii*, *Linum narbonense*, *Linum perenne*, *Linum perenne* var. *lewisii*, *Linum pratense* oder *Linum trigynum* [Lein], Lythrarieae wie die Gattung *Punica* z.B. die Gattung und Art *Punica granatum* [Granatapfel], Malvaceae wie die Gattung *Gossypium* z.B. die Gattungen und Arten *Gossypium hirsutum*, *Gossypium arboreum*, *Gossypium barbadense*, *Gossypium herbaceum* oder *Gossypium thurberi* [Baumwolle], Marchantiaceae wie die Gattung *Marchantia* z.B. die Gattungen und Arten *Marchantia berteriana*, *Marchantia foliacea*, *Marchantia macropora*, Musaceae wie die Gattung *Musa* z.B. die Gattungen und Arten *Musa nana*, *Musa acuminata*, *Musa paradisiaca*, *Musa* spp. [Banane], Onagraceae wie die Gattungen *Camissonia*, *Oenothera* z.B. die Gattungen und Arten *Oenothera biennis* oder *Camissonia brevipes* [Nachtkerze], Palmae wie die Gattung *Elaeis* z.B. die Gattung und Art *Elaeis guineensis* [Ölpalme], Papaveraceae wie die Gattung *Papaver* z.B. die Gattungen und Arten *Papaver orientale*, *Papaver rhoeas*, *Papaver dubium* [Mohn], Pedaliaceae wie die Gattung *Sesamum* z.B. die Gattung und Art *Sesamum indicum* [Sesam], Piperaceae wie die Gattungen *Piper*, *Artanthe*, *Peperomia*, *Steffensia* z.B. die Gattungen und Arten *Piper aduncum*, *Piper amalago*, *Piper angustifolium*, *Piper auritum*, *Piper betel*, *Piper cubeba*, *Piper longum*, *Piper nigrum*, *Piper retrofractum*, *Artanthe adunca*, *Artanthe*

- elongata*, *Peperomia elongata*, *Piper elongatum*, *Steffensia elongata*. [Cayennepfeffer], Poaceae wie die Gattungen *Hordeum*, *Secale*, *Avena*, *Sorghum*, *Andropogon*, *Holcus*, *Panicum*, *Oryza*, *Zea* (Mais), *Triticum* z.B. die Gattungen und Arten *Hordeum vulgare*, *Hordeum jubatum*, *Hordeum murinum*, *Hordeum secalinum*, *Hordeum distichon*
- 5 *Hordeum aegiceras*, *Hordeum hexastichon.*, *Hordeum hexastichum*, *Hordeum irregulare*, *Hordeum sativum*, *Hordeum secalinum* [Gerste], *Secale cereale* [Roggen], *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida* [Hafer], *Sorghum bicolor*, *Sorghum halepense*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum vulgare*, *Andropogon drummondii*, *Holcus bicolor*, *Holcus sorghum*, *Sorghum aethiopicum*, *Sorghum arundinaceum*, *Sorghum caffrorum*, *Sorghum cernuum*, *Sorghum dochna*, *Sorghum drummondii*, *Sorghum durra*, *Sorghum guineense*, *Sorghum lanceolatum*, *Sorghum nervosum*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum subglabrescens*, *Sorghum verticilliflorum*, *Sorghum vulgare*, *Holcus halepensis*, *Sorghum miliaceum*, *Panicum militaceum* [Hirse], *Oryza sativa*, *Oryza latifolia* [Reis], *Zea mays* [Mais]
- 15 *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum* oder *Triticum vulgare* [Weizen], *Porphyridiaceae* wie die Gattungen *Chrootheca*, *Flintiella*, *Petrovanella*, *Porphyridium*, *Rhodella*, *Rhodorus*, *Vanhoeffenia* z.B. die Gattung und Art *Porphyridium cruentum*, *Proteaceae* wie die Gattung *Macadamia* z.B. die Gattung und Art *Macadamia intergrifolia* [Macadamia],
- 20 *Prasinophyceae* wie die Gattungen *Nephroselmis*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*, *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus* z.B. die Gattungen und Arten *Nephroselmis olivacea*, *Prasinococcus capsulatus*, *Scherffelia dubia*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis suecica*, *Mantoniella squamata*, *Ostreococcus tauri*, *Rubiaceae* wie die Gattung *Coffea* z.B. die Gattungen und Arten *Coffea* spp., *Coffea arabica*, *Coffea canephora* oder
- 25 *Coffea liberica* [Kaffee], *Scrophulariaceae* wie die Gattung *Verbascum* z.B. die Gattungen und Arten *Verbascum blattaria*, *Verbascum chaixii*, *Verbascum densiflorum*, *Verbascum lagurus*, *Verbascum longifolium*, *Verbascum lychnitis*, *Verbascum nigrum*, *Verbascum olympicum*, *Verbascum phlomoides*, *Verbascum phoenicum*, *Verbascum pulverulentum* oder *Verbascum thapsus* [Königskerze], *Solanaceae* wie die Gattungen
- 30 *Capsicum*, *Nicotiana*, *Solanum*, *Lycopersicon* z.B. die Gattungen und Arten *Capsicum annuum*, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, *Capsicum frutescens* [Pfeffer], *Capsicum annuum* [Paprika], *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana alata*, *Nicotiana attenuata*, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana langsdorffii*, *Nicotiana obtusifolia*, *Nicotiana quadrivalvis*, *Nicotiana repanda*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana sylvestris* [Tabak], *Solanum tuberosum*
- 35 [Kartoffel], *Solanum melongena* [Aubergine] *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum.*, *Lycopersicon pyriforme*, *Solanum integrifolium* oder *Solanum lycopersicum* [Tomate], *Sterculiaceae* wie die Gattung *Theobroma* z.B. die Gattung und Art *Theobroma cacao* [Kakao] oder *Theaceae* wie die Gattung *Camellia* z.B. die Gattung und Art *Camellia sinensis* [Tee].
- 40 Vorteilhafte Mikroorganismen sind beispielweise Pilze ausgewählt aus der Gruppe der Familien *Chaetomiaceae*, *Choanephoraceae*, *Cryptococcaceae*, *Cunninghamellaceae*, *Dematiaceae*, *Moniliaceae*, *Mortierellaceae*, *Mucoraceae*, *Pythiaceae*, *Sacharomycetaceae*, *Saprolegniaceae*, *Schizosacharomycetaceae*, *Sodariaceae* oder *Tuberulariaceae*.

Beispielhaft seien die folgenden Mikroorganismen genannt ausgewählt aus der Gruppe: Choanephoraceae wie den Gattungen *Blakeslea*, *Choanephora* z.B. die Gattungen und Arten *Blakeslea trispora*, *Choanephora cucurbitarum*, *Choanephora infundibulifera* var. *cucurbitarum*, Mortierellaceae wie der Gattung *Mortierella* z.B. die Gattungen und Arten *Mortierella isabellina*, *Mortierella polycephala*, *Mortierella ramanniana*, *Mortierella vinacea*, *Mortierella zonata*, Pythiaceae wie den Gattungen *Phytium*, *Phytophthora* z.B. die Gattungen und Arten *Pythium debaryanum*, *Pythium intermedium*, *Pythium irregulare*, *Pythium megalacanthum*, *Pythium paroecandrum*, *Pythium sylvaticum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora erythroseptica*, *Phytophthora lateralis*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora syringae*, Saccharomycetaceae wie den Gattungen *Hansenula*, *Pichia*, *Saccharomyces*, Saccharomycodes, *Yarrowia* z.B. die Gattungen und Arten *Hansenula anomala*, *Hansenula californica*, *Hansenula canadensis*, *Hansenula capsulata*, *Hansenula ciferrii*, *Hansenula glucozyma*, *Hansenula henricii*, *Hansenula holstii*, *Hansenula minuta*, *Hansenula nonfermentans*, *Hansenula philodendri*, *Hansenula polymorpha*, *Hansenula saturnus*, *Hansenula subpelliculosa*, *Hansenula wickerhamii*, *Hansenula wingei*, *Pichia alcoholophila*, *Pichia angusta*, *Pichia anomala*, *Pichia bisporea*, *Pichia burtonii*, *Pichia canadensis*, *Pichia capsulata*, *Pichia carsonii*, *Pichia cellobiosa*, *Pichia ciferrii*, *Pichia farinosa*, *Pichia fermentans*, *Pichia finlandica*, *Pichia glucozyma*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia haplophila*, *Pichia henricii*, *Pichia holstii*, *Pichia jadinii*, *Pichia lindnerii*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia methanolica*, *Pichia minuta* var. *minuta*, *Pichia minuta* var. *nonfermentans*, *Pichia norvegensis*, *Pichia ohmeri*, *Pichia pastoris*, *Pichia philodendri*, *Pichia pini*, *Pichia polymorpha*, *Pichia quercuum*, *Pichia rhodanensis*, *Pichia sargentensis*, *Pichia stipitis*, *Pichia strasburgensis*, *Pichia subpelliculosa*, *Pichia toletana*, *Pichia trehalophila*, *Pichia vini*, *Pichia xylosa*, *Saccharomyces acetii*, *Saccharomyces bailii*, *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces capensis*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Saccharomyces chevalieri*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces drosophilae*, *Saccharomyces elegans*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces fermentati*, *Saccharomyces florentinus*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Saccharomyces hienpiensis*, *Saccharomyces inusitatus*, *Saccharomyces italicus*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces krusei*, *Saccharomyces lactis*, *Saccharomyces marxianus*, *Saccharomyces microellipsoideus*, *Saccharomyces montanus*, *Saccharomyces norbensis*, *Saccharomyces oleaceus*, *Saccharomyces paradoxus*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces pretoriensis*, *Saccharomyces rosei*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Yarrowia lipolytica*, Schizosaccharomycetaceae such as the genera *Schizosaccharomyces* e.g. the species *Schizosaccharomyces japonicus* var. *japonicus*, *Schizosaccharomyces japonicus* var. *versatilis*, *Schizosaccharomyces malidevorans*, *Schizosaccharomyces octosporus*, *Schizosaccharomyces pombe* var. *malidevorans*, *Schizosaccharomyces pombe* var. *pombe*, Thraustochytriaceae such as the genera *Althornia*, *Aplanochy-*

trium, Japonochytrium, Schizochytrium, Thraustochytrium e.g. the species *Schizochytrium aggregatum*, *Schizochytrium limacinum*, *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium minutum*, *Schizochytrium octosporum*, *Thraustochytrium aggregatum*, *Thraustochytrium amoeboides*, *Thraustochytrium antacticum*, *Thraustochytrium arundinale*, *Thraustochytrium aureum*, *Thraustochytrium benthiicola*, *Thraustochytrium globosum*, *Thraustochytrium indicum*, *Thraustochytrium kerguelense*, *Thraustochytrium kinnei*, *Thraustochytrium motivum*, *Thraustochytrium multirudimentale*, *Thraustochytrium pachydermum*, *Thraustochytrium proliferum*, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium rossii*, *Thraustochytrium striatum* oder *Thraustochytrium visurgense*.

Weitere vorteilhafte Mikroorganismen sind beispielweise Bakterien ausgewählt aus der Gruppe der Familien Bacillaceae, Enterobacteriaceae oder Rhizobiaceae.

Beispielhaft seien die folgenden Mikroorganismen genannt ausgewählt aus der Gruppe: Bacillaceae wie die Gattung *Bacillus* z.B. die Gattungen und Arten *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus amylolyticus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus sphaericus* subsp. *fusiformis*, *Bacillus galactophilus*, *Bacillus globisporus*, *Bacillus globisporus* subsp. *marinus*, *Bacillus halophilus*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus psychrosaccharolyticus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*, *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* oder *Bacillus thuringiensis*; Enterobacteriaceae wie die Gattungen *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* oder *Serratia* z.B. die Gattungen und Arten *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter genomospecies*, *Citrobacter gillenii*, *Citrobacter intermedium*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter murlinae*, *Citrobacter* sp., *Edwardsiella hoshinae*, *Edwardsiella ictaluri*, *Edwardsiella tarda*, *Erwinia alni*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia ananatis*, *Erwinia aphidicola*, *Erwinia billingiae*, *Erwinia cacticida*, *Erwinia cancerogena*, *Erwinia carnegieana*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *betavasculorum*, *Erwinia carotovora* subsp. *odorifera*, *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia cypripedii*, *Erwinia dissolvens*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia mallotivora*, *Erwinia milletiae*, *Erwinia nigrifluens*, *Erwinia nimipressuralis*, *Erwinia persicina*, *Erwinia psidii*, *Erwinia pyrifoliae*, *Erwinia quercina*, *Erwinia rhapontici*, *Erwinia rubrifaciens*, *Erwinia salicis*, *Erwinia stewartii*, *Erwinia tracheiphila*, *Erwinia uredovora*, *Escherichia adecarboxylata*, *Escherichia anindolica*, *Escherichia aurescens*, *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* var. *communior*, *Escherichia coli*-mutabile, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia* sp., *Escherichia vulneris*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella edwardsii* subsp. *atlantae*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *Klebsiella* sp., *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella trevisanii*, *Salmonella abony*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella bongori*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *arizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Salmonella choleraesuis* subsp.

- diarizonae, *Salmonella choleraesuis* subsp. *houtenae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *indica*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *salamae*, *Salmonella daressalaam*, *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*, *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella heidelberg*, *Salmonella panama*, *Salmonella* 5 *senftenberg*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia entomophila*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, *Serratia grimesii*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Serratia marcescens* subsp. *marcescens*, *Serratia marinorubra*, *Serratia odorifera*, *Serratia plymouthisensis*, *Serratia plymuthica*, *Serratia proteamaculans*, *Serratia proteamaculans* 10 subsp. *quinovora*, *Serratia quinivorans* oder *Serratia rubidaea*; Rhizobiaceae wie die Gattungen *Agrobacterium*, *Carbophilus*, *Chelatobacter*, *Ensifer*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* z.B. die Gattungen und Arten *Agrobacterium atlanticum*, *Agrobacterium ferrugineum*, *Agrobacterium gelatinovorum*, *Agrobacterium larrymoorei*, *Agrobacterium* 15 *meteor*, *Agrobacterium radiobacter*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Agrobacterium rubi*, *Agrobacterium stellulatum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Carbophilus carboxidus*, *Chelatobacter heintzii*, *Ensifer adhaerens*, *Ensifer arboris*, *Ensifer fredii*, *Ensifer kostiensis*, *Ensifer kummerowiae*, *Ensifer medicae*, *Ensifer meliloti*, *Ensifer saheli*, *Ensifer teranga*, *Ensifer xinjiangensis*, *Rhizobium ciceri* *Rhizobium etli*, *Rhizobium fredii*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium* 20 *hainanense*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium huautlense*, *Rhizobium indigoferae*, *Rhizobium japonicum*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium loessense*, *Rhizobium loti*, *Rhizobium lupini*, *Rhizobium mediterraneum*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium mongolense*, *Rhizobium phaseoli*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium rhizogenes*, *Rhizobium rubi*, *Rhizobium sullae*, *Rhizobium tianshanense*, *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium undicola*, *Rhizobium vitis*, *Sinorhizobium adhaerens*, 25 *Sinorhizobium arboris*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium kostiense*, *Sinorhizobium kummerowiae*, *Sinorhizobium medicae*, *Sinorhizobium meliloti*, *Sinorhizobium morelense*, *Sinorhizobium saheli* oder *Sinorhizobium xinjiangense*.

- Weitere vorteilhafte Mikroorganismen für das erfindungsgemäße Verfahren sind beispielweise Protisten oder Diatomeen ausgewählt aus der Gruppe der Familien 30 *Dinophyceae*, *Turaniellidae* oder *Oxytrichidae* wie die Gattungen und Arten: *Cryptocodium cohnii*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Stylonychia mytilus*, *Stylonychia pustulata*, *Stylonychia putrina*, *Stylonychia notophora*, *Stylonychia* sp., *Colpidium campylum* oder *Colpidium* sp.

- Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren transgene Organismen wie 35 Pilze wie *Mortierella* oder *Traustochytrium*, Hefen wie *Saccharomyces* oder *Schizosaccharomyces*, Moose wie *Physcomitrella* oder *Ceratodon*, nicht-humane Tiere wie *Caenorhabditis*, Algen wie *Nephroselmis*, *Pseudoscurfielda*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*, *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Cryptocodium* oder *Phaeodactylum* oder Pflanzen wie zweikeimblättrige oder einkeimblättrige Pflanzen ver- 40 wendet. Besonders vorteilhaft werden Organismen im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet, die zu den Öl-produzierenden Organismen gehören, das heißt die für die Herstellung von Ölen verwendet werden, wie Pilze wie *Mortierella* oder *Traustochytrium*, Algen wie *Nephroselmis*, *Pseudoscurfielda*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*,

Tetraselmis, Mantoniella, Ostreococcus, Cryptocodinium, Phaeodactylum oder Pflanzen, insbesondere Pflanzen bevorzugt Ölfuchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Saflor (Carthamus tinctoria), Mohn, Senf, Hanf, Rizinus, Olive, Sesam, Calendula, Punica, 5 Nachtkerze, Königskerze, Distel, Wildrosen, Haselnuss, Mandel, Macadamia, Avocado, Lorbeer, Kürbis, Lein, Soja, Pistazien, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss oder Walnuss) oder Feldfrüchte, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa oder Buschpflanzen (Kaffee, 10 Kakao, Tee), Salix-Arten sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte. Bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfuchtpflanzen, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Saflor, Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Calendula, Punica, Nachtkerze, Kürbis, Lein, Soja, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss). Besonders bevorzugt sind C18:2- und/oder C18:3-Fettsäure reiche Pflanzen wie Sonnenblume, 15 Färberdistel, Tabak, Königskerze, Sesam, Baumwolle, Kürbis, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein, Hanf, Distel oder Färberdistel. Ganz besonders bevorzugt sind Pflanzen wie Färberdistel, Sonnenblume, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein oder Hanf.

Für das erfindungsgemäße beschriebene Verfahren ist es vorteilhaft in den Organismus zusätzlich zu den unter Verfahrensschritt (a) bis (e) eingebrachten Nukleinsäuren 20 sowie den ggf. eingebrachten Nukleinsäuresequenzen, die für die ω -3-Desaturase codieren, zusätzlich weitere Nukleinsäuren einzubringen, die für Enzyme des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren.

Im Prinzip können alle Gene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels vorteilhaft in Kombination mit der(den) erfinderischen Δ -5-Elongase(n), Δ -6-Elongase(n) und/oder 25 ω -3-Desaturase(n) [im Sinne dieser Anmeldung soll der Plural den Singular und umgekehrt beinhalten] im Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren verwendet werden vorteilhaft werden Gene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), 30 Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen, Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylasen, Lipoxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) in Kombination mit der Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase verwendet. 35 Besonders bevorzugt werden Gene ausgewählt aus der Gruppe der Δ -4-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -9-Desaturasen, Δ -12-Desaturasen, Δ -6-Elongasen oder Δ -9-Elongasen in Kombination mit den vorgenannten Genen für die Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase verwendet, wobei einzelne Gene oder mehrere Gene in Kombination verwendet werden können.

40 Die erfindungsgemäßen Δ -5-Elongasen haben gegenüber den humanen Elongasen die vorteilhafte Eigenschaft, dass sie C22-Fettsäuren nicht zu den entsprechenden C24-Fettsäuren elongieren. Besonders vorteilhafte Δ -5-Elongasen setzen bevorzugt

nur ungesättigte C20-Fettsäuren um. Vorteilhaft werden nur C20-Fettsäuren mit einer Doppelbindung in Δ -5-Position umgesetzt, wobei ω 3C20 Fettsäuren bevorzugt werden (EPA). Weiterhin haben sie in einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung die Eigenschaft, dass sie neben der Δ -5-Elongaseaktivität keine oder nur eine relativ geringe Δ -6-Elongaseaktivität aufweisen. Vorteilhaft setzen sie in einem Hefefütterungstext, in dem als Substrat EPA den Hefen zugesetzt wurde, mindestens 15 Gew.-% des zugesetzten EPAs zu Docosapentaensäure (DPA, C22:5 ^{Δ 7,10,13,16,19}), vorteilhaft mindestens 20 Gew.-%, besonders vorteilhaft mindestens 25 Gew.-% um. Wird als Substrat γ -Linolensäure (= GLA, C18:3 ^{Δ 6,9,12}) gegeben, so wird diese vorteilhaft gar nicht elongiert. Ebenfalls wird auch C18:3 ^{Δ 5,9,12} nicht elongiert. In einer anderen vorteilhaften Ausführungsform werden weniger als 60 Gew.-% des zugesetzten GLA zu Dihomo- γ -linolensäure (= C20:3 ^{Δ 8,11,14}) umgesetzt, vorteilhaft weniger als 55 Gew.-%, bevorzugt weniger als 50 Gew.-%, besonders vorteilhaft weniger als 45 Gew.-%, ganz besonders vorteilhaft weniger als 40 Gew.-%. In einer weiteren ganz bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Δ -5-Elongaseaktivität wird GLA nicht umgesetzt.

Die erfindungsgemäße ω -3-Desaturase hat gegenüber den bekannten ω -3-Desaturase die vorteilhafte Eigenschaft, dass sie ein breites Spektrum an ω -6-Fettsäuren desaturieren kann, bevorzugt werden C₂₀- und C₂₂-Fettsäuren wie C_{20:2}-, C_{20:3}-, C_{20:4}-, C_{22:4}- oder C_{22:5}-Fettsäuren desaturiert. Aber auch die kürzeren C₁₈-Fettsäuren wie C_{18:2}- oder C_{18:3}-Fettsäuren werden vorteilhaft desaturiert. Durch diese Eigenschaften der ω -3-Desaturase ist es vorteilhaft möglich das Fettsäurespektrum innerhalb eines Organismus vorteilhaft innerhalb einer Pflanze oder einem Pilz von den ω -6-Fettsäuren zu den ω -3-Fettsäuren hin zu verschieben. Bevorzugt werden von der erfindungsgemäßen ω -3-Desaturase C₂₀-Fettsäuren desaturiert. Innerhalb des Organismus werden diese Fettsäuren aus dem vorhandenen Fettsäurepool zu mindestens 10 %, 15 %, 20 %, 25 % oder 30 % zu den entsprechenden ω -3-Fettsäuren umgesetzt. Gegenüber den C₁₈-Fettsäuren weist die ω -3-Desaturase eine um den Faktor 10 geringere Aktivität auf, das heißt es werden nur ca. 1,5 bis 3% der im Fettsäurepool vorhandenen Fettsäuren zu den entsprechenden ω -3-Fettsäuren umgesetzt. Bevorzugtes Substrat der erfindungsgemäßen ω -3-Desaturase sind die in Phospholipiden gebundenen ω -6-Fettsäuren. Figur 19 zeigt deutlich am Beispiel der Desaturierung von Arachidonsäure [C_{20:4} ^{Δ 5,8,11,14}], dass die ω -3-Desaturase bei der Desaturierung vorteilhaft nicht zwischen an sn1- oder sn2-Position gebundenen Fettsäuren unterscheidet. Sowohl an sn1- oder sn2-Position in den Phospholipide gebundene Fettsäuren werden desaturiert. Weiterhin ist vorteilhaft, dass die ω -3-Desaturase eine breite Palette von Phospholipiden wie Phosphatidylcholin (= PC), Phosphatidylinositol (= PIS) oder Phosphatidylethanolamin (= PE) umsetzt. Schließlich lassen sich auch Desaturierungsprodukte in den Neutrallipiden (= NL), das heißt in den Triglyceriden finden.

Durch die enzymatische Aktivität der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- und/oder ω -3-Desaturaseaktivität codieren, vorteilhaft in Kombination mit Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels wie weiteren Polypeptiden

mit Δ -4-, Δ -5-, Δ -6-, Δ -8-Desaturase- oder Δ -5-, Δ -6- oder Δ -9-Elongaseaktivität codieren, können unterschiedlichste mehrfach ungesättigte Fettsäuren im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt werden. Je nach Auswahl der für das erfindungsgemäße Verfahren verwendeten Organismen wie den vorteilhaften Pflanze lassen sich Mischungen der verschiedenen mehrfach ungesättigten Fettsäuren oder einzelne mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie EPA oder ARA in freier oder gebundener Form herstellen. Je nachdem welche Fettsäurezusammensetzung in der Ausgangspflanze vorherrscht (C18:2- oder C18:3-Fettsäuren) entstehen so Fettsäuren, die sich von C18:2-Fettsäuren ableiten, wie GLA, DGLA oder ARA oder, die sich von C18:3-Fettsäuren ableiten, wie SDA, ETA oder EPA. Liegt in der für das Verfahren verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur Linolsäure (= LA, C18:2 ^{Δ 9,12}) vor, so können als Produkte des Verfahrens nur GLA, DGLA und ARA entstehen, die als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Ist in der im Verfahren verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur α -Linolensäure (= ALA, C18:3 ^{Δ 9,12,15}) beispielsweise wie in Lein, so können als Produkte des Verfahrens nur SDA, ETA, EPA und/oder DHA entstehen, die wie oben beschrieben als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Durch Modifikation der Aktivität des an der Synthese beteiligten Enzyms Δ -5-Elongase vorteilhaft in Kombination mit der Δ -4-, Δ -5-, Δ -6-Desaturase und/oder Δ -6-Elongase, oder der Δ -4-, Δ -5-, Δ -8-Desaturase, und/oder Δ -9-Elongase lassen sich gezielt in den vorgenannten Organismen vorteilhaft in den vorgenannten Pflanzen nur einzelne Produkte herstellten. Durch die Aktivität der Δ -6-Desaturase und Δ -6-Elongase entstehen beispielsweise GLA und DGLA bzw. SDA und ETA, je nach Ausgangspflanze und ungesättigter Fettsäure. Bevorzugt entstehen DGLA bzw. ETA oder deren Mischungen. Werden die Δ -5-Desaturase, die Δ -5-Elongase und die Δ -4-Desaturase zusätzlich in die Organismen vorteilhaft in die Pflanze eingebracht, so entstehen zusätzlich ARA, EPA und/oder DHA. Dies gilt auch für Organismen in die vorher die Δ -8-Desaturase und Δ -9-Elongase eingebracht wurde. Vorteilhaft werden nur ARA, EPA oder DHA oder deren Mischungen synthetisiert, abhängig von der in im Organismus bzw. in der Pflanze vorliegenden Fettsäure, die als Ausgangssubstanz für die Synthese dient. Da es sich um Biosyntheseketten handelt, liegen die jeweiligen Endprodukte nicht als Reinsubstanzen in den Organismen vor. Es sind immer auch geringe Mengen der Vorläuferverbindungen im Endprodukt enthalten. Diese geringen Mengen betragen weniger als 20 Gew.-%, vorteilhaft weniger als 15 Gew.-%, besonders vorteilhaft weniger als 10 Gew.-%, ganz besonders vorteilhaft weniger als 5, 4, 3, 2 oder 1 Gew.-% bezogen auf das Endprodukt DGLA, ETA oder deren Mischungen bzw. ARA, EPA, DHA oder deren Mischungen vorteilhaft EPA oder DHA oder deren Mischungen.

Das von der erfindungsgemäßen Nukleinsäure kodierte Protein zeigt eine hohe Spezifität für die beiden Vorstufen C18:4 ^{Δ 6,9,12,15}- und C20:5 ^{Δ 5,8,11,14,17}-Fettsäuren zur Synthese von DHA (Vorstufen und Synthese von DHA siehe Figur 1). Das von SEQ ID NO: 53 kodierte Protein hat damit eine Spezifität für Δ 6- und Δ 5-Fettsäuren mit zusätzlich einer ω 3-Doppelbindung (Figur 2). Die Δ -5-Elongase hat eine keto-Acyl-CoA-Synthase-Aktivität, die vorteilhaft Fettsäurereste von Acyl-CoA-Estern um 2 Kohlenstoffatome verlängert.

Mittels der Δ -5-Elongase-Gene, der Δ -5-Desaturase aus *Phaeodactylum* sowie der Δ -4-Desaturase aus *Euglena* konnte die Synthese von DHA in Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) nachgewiesen werden (Figur 3).

5 Neben der Produktion der Ausgangsfettsäuren für die erfindungsgemäße Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase direkt im Organismus können die Fettsäuren auch von außen gefüttert werden. Aus Kostengründen ist die Produktion im Organismus bevorzugt. Bevorzugt Substrate der ω -3-Desaturase sind die Linolsäure (C18:2 ^{Δ 9,12}), die γ -Linolensäure (C18:3 ^{Δ 6,9,12}), die Eicosadiensäure (C20:2 ^{Δ 11,14}), die Dihomo- γ -linolensäure (C20:3 ^{Δ 8,11,14}), die Arachidonsäure (C20:4 ^{Δ 5,8,11,14}), die Docosetetraensäure (C22:4 ^{Δ 7,10,13,16}) und die Docosapentaensäure (C22:5 ^{Δ 4,7,10,13,15}).

10 Zur Steigerung der Ausbeute im beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triglyceriden mit einem vorteilhaft erhöhten Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist es vorteilhaft die Menge an Ausgangsprodukt für die Fettsäuresynthese zu steigern, dies kann beispielsweise durch das Einbringen einer Nukleinsäure in den Organismus, die für ein Polypeptid mit Δ -12-Desaturase codiert, erreicht werden. Dies ist besonders vorteilhaft in Öl-produzierenden Organismen wie Raps, die einen hohen Ölsäuregehalt aufweisen. Da diese Organismen nur einen geringen Gehalt an Linolsäure aufweisen (Mikoklajczak et al., Journal of the American Oil Chemical Society, 38, 1961, 678 - 681) ist die Verwendung der genannten Δ -12-Desaturasen zur Herstellung des Ausgangsprodukts Linolsäure vorteilhaft.

15 Im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren stammen vorteilhaft aus Pflanzen wie Algen beispielsweise Algen der Familie der Prasinophyceae wie aus den Gattungen *Heteromastix*, *Mammella*, *Mantoniella*, *Micromonas*, *Nephroselmis*, *Ostreococcus*, *Prasinocladus*, *Prasinococcus*, *Pseudoscourfielda*, *Pycnococcus*, *Pyramimonas*, *Scherffelia* oder *Tetraselmis* wie den Gattungen und Arten *Heteromastix longifillilis*, *Mamiella gilva*, *Mantoniella squamata*, *Micromonas pusilla*, *Nephroselmis olivacea*, *Nephroselmis pyriformis*, *Nephroselmis rotunda*, *Ostreococcus tauri*, *Ostreococcus* sp. *Prasinocladus ascus*, *Prasinocladus lubricus*, *Pycnococcus provasolii*, *Pyramimonas amylifera*, *Pyramimonas disomata*, *Pyramimonas obovata*, *Pyramimonas orientalis*, *Pyramimonas parkeae*, *Pyramimonas spinifera*, *Pyramimonas* sp., *Tetraselmis apiculata*, *Tetraselmis carteriaeformis*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis convolutae*, *Tetraselmis desikacharyi*, *Tetraselmis gracilis*, *Tetraselmis hazeni*, *Tetraselmis impellucida*, *Tetraselmis inconspicua*, *Tetraselmis levis*, *Tetraselmis maculata*, *Tetraselmis marina*, *Tetraselmis striata*, *Tetraselmis subcordiformis*, *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis tetrabrachia*, *Tetraselmis tetrathele*, *Tetraselmis verrucosa*, *Tetraselmis verrucosa* fo. *Rubens* oder *Tetraselmis* sp. Vorteilhaft stammen die verwendeten Nukleinsäuren aus Algen der Gattungen *Mantoniella* oder *Ostreococcus*.

20 Weitere vorteilhafte Pflanzen sind Algen wie *Isochrysis* oder *Cryptothecodinium*, Algen/Diatomeen wie *Phaeodactylum* oder *Thraustochytrium*, Moose wie *Physcomitrella* oder *Ceratodon* oder höheren Pflanzen wie den *Primulaceae* wie *Aleuritia*, *Calendula*

stellata, Osteospermum spinescens oder Osteospermum hyoseroides, Mikroorganismen wie Pilzen wie Aspergillus, Thraustochytrium, Phytophthora, Entomophthora, Mucor oder Mortierella, Bakterien wie Shewanella, Hefen oder Tieren wie Nematoden wie Caenorhabditis, Insekten oder Fischen. Vorteilhaft stammen die erfindungsgemäßen isolierten Nukleinsäuresequenzen aus einem Tier aus der Ordnung der Vertebraten. Bevorzugt stammen die Nukleinsäuresequenzen aus der Klasse der Vertebrata; Euteleostomi, Actinopterygii; Neopterygii; Teleostei; Euteleostei, Protacanthopterygii, Salmoniformes; Salmonidae bzw. Oncorhynchus. Besonders vorteilhaft stammen die Nukleinsäuren aus Pilzen, Tieren oder aus Pflanzen wie Algen oder Moosen, bevorzugt aus der Ordnung der Salmoniformes wie der Familie der Salmonidae wie der Gattung Salmo beispielsweise aus den Gattungen und Arten Oncorhynchus mykiss, Trutta trutta oder Salmo trutta fario, aus Algen wie den Gattungen Mantoniella oder Ostreococcus oder aus den Diatomeen wie den Gattungen Thallasiosira oder Crypthecodinium.

Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen oder deren Derivat oder Homologe, die für Polypeptide codieren, die noch die enzymatische Aktivität der durch Nukleinsäuresequenzen codierten Proteine besitzen. Diese Sequenzen werden einzeln oder in Kombination mit den für die Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase codierenden Nukleinsäuresequenzen in Expressionskonstrukte cloniert und zum Einbringen und zur Expression in Organismen verwendet. Diese Expressionskonstrukte ermöglichen durch ihre Konstruktion eine vorteilhafte optimale Synthese der im erfindungsgemäßen Verfahren produzierten mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens einer Zelle oder eines ganzen Organismus, der die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen enthält, wobei die Zelle und/oder der Organismus mit einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz, die für die Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase codiert, einem Genkonstrukt oder einem Vektor wie nachfolgend beschrieben, allein oder in Kombination mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Proteine des Fettsäure- oder Lipidsstoffwechsels codieren, transformiert wird. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst dieses Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens der Öle, Lipide oder freien Fettsäuren aus dem Organismus oder aus der Kultur. Bei der Kultur kann es sich beispielsweise um eine Fermentationskultur beispielsweise im Falle der Kultivierung von Mikroorganismen wie z.B. Mortierella, Thallasiosira, Mantoniella, Ostreococcus, Saccharomyces oder Thraustochytrium oder um eine Treibhaus oder Feldkultur einer Pflanze handeln. Die so hergestellte Zelle oder der so hergestellte Organismus ist vorteilhaft eine Zelle eines Öl-produzierenden Organismus wie einer Ölfruchtpflanze wie beispielsweise Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Hanf, Erdnuss, Soja, Safflower, Hanf, Sonnenblumen oder Borretsch.

Unter Anzucht ist beispielsweise die Kultivierung im Falle von Pflanzenzellen, -gewebe oder -organe auf oder in einem Nährmedium oder der ganzen Pflanze auf bzw. in einem Substrat beispielsweise in Hydrokultur, Blumentopferde oder auf einem Ackerboden zu verstehen.

5 "Transgen" bzw. "Rekombinant" im Sinne der Erfindung bedeutet bezüglich zum Beispiel einer Nukleinsäuresequenz, einer Expressionskassette (= Genkonstrukt) oder einem Vektor enthaltend die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz oder einem Organismus transformiert mit den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Expressionskassette oder Vektor alle solche durch gentechnische Methoden zustande-
10 gekommenen Konstruktionen, in denen sich entweder

- a) die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz, oder
- b) eine mit der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz funktionell verknüpfte genetische Kontrollsequenz, zum Beispiel ein Promotor, oder
- c) (a) und (b)

15 sich nicht in ihrer natürlichen, genetischen Umgebung befinden oder durch gentechnische Methoden modifiziert wurden, wobei die Modifikation beispielhaft eine Substitution, Addition, Deletion, Inversion oder Insertion eines oder mehrerer Nukleotidreste sein kann. Natürliche genetische Umgebung meint den natürlichen genomischen bzw. chromosomalen Locus in dem Herkunftsorganismus oder das Vorliegen in
20 einer genomischen Bibliothek. Im Fall einer genomischen Bibliothek ist die natürliche, genetische Umgebung der Nukleinsäuresequenz bevorzugt zumindest noch teilweise erhalten. Die Umgebung flankiert die Nukleinsäuresequenz zumindest an einer Seite und hat eine Sequenzlänge von mindestens 50 bp, bevorzugt mindestens 500 bp, besonders bevorzugt mindestens 1000 bp, ganz besonders bevorzugt mindestens
25 5000 bp. Eine natürlich vorkommende Expressionskassette - beispielsweise die natürlich vorkommende Kombination des natürlichen Promotors der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen mit den entsprechenden Δ -5-Elongasegenen - wird zu einer transgenen Expressionskassette, wenn diese durch nicht-natürliche, synthetische ("künstliche") Verfahren wie beispielsweise einer Mutagenisierung
30 geändert wird. Entsprechende Verfahren sind beispielsweise beschrieben in US 5,565,350 oder WO 00/15815.

Unter transgenen Organismus bzw. transgener Pflanze im Sinne der Erfindung ist wie vorgenannt zu verstehen, dass die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren nicht an ihrer natürlichen Stelle im Genom eines Organismus sind, dabei können die Nukleinsäuren homolog oder heterolog exprimiert werden. Transgen bedeutet aber auch wie
35 genannt, dass die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an ihrem natürlichen Platz im Genom eines Organismus sind, dass jedoch die Sequenz gegenüber der natürlichen Sequenz verändert wurde und/oder dass die Regulationssequenzen, der natürlichen Sequenzen verändert wurden. Bevorzugt ist unter transgen die Expression der
40 erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an nicht natürlicher Stelle im Genom zu verstehen,

das heißt eine homologe oder bevorzugt heterologe Expression der Nukleinsäuren liegt vor. Bevorzugte transgene Organismen sind Pilze wie *Mortierella* oder *Phytophthora*, Moose wie *Physcomitrella*, Algen wie *Mantoniella* oder *Ostreococcus*, Diatomeen wie *Thalassiosira* oder *Cryptocodinium* oder Pflanzen wie die Ölfuchtpflanzen.

- 5 Als Organismen bzw. Wirtsorganismen für die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die Expressionskassette oder den Vektor eignen sich prinzipiell vorteilhaft alle Organismen, die in der Lage sind Fettsäuren speziell ungesättigte Fettsäuren zu synthetisieren bzw. für die Expression rekombinanter Gene geeignet sind. Beispielhaft seien Pflanzen wie *Arabidopsis*, Asteraceae wie *Calendula* oder Kulturpflanzen wie Soja, Erdnuss, Rizinus, Sonnenblume, Mais, Baumwolle, 10 Flachs, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, FärberSaflor (*Carthamus tinctorius*) oder Kakao-bohne, Mikroorganismen wie Pilze beispielsweise die Gattung *Mortierella*, *Thraustochytrium*, *Saprolegnia*, *Phytophthora* oder *Pythium*, Bakterien wie die Gattung *Escherichia* oder *Shewanella*, Hefen wie die Gattung *Saccharomyces*, Cyanobakterien, 15 Ciliaten, Algen wie *Mantoniella* oder *Ostreococcus* oder Protozoen wie Dinoflagellaten wie *Thalassiosira* oder *Cryptocodinium* genannt. Bevorzugt werden Organismen, die natürlicherweise Öle in größeren Mengen synthetisieren können wie Pilze wie *Mortierella alpina*, *Pythium insidiosum*, *Phytophthora infestans* oder Pflanzen wie Soja, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, FärberSaflor, Flachs, Hanf, Rizinus, *Calendula*, Erdnuss, Kakao- 20 bohne oder Sonnenblume oder Hefen wie *Saccharomyces cerevisiae*, besonders bevorzugt werden Soja, Flachs, Raps, FärberSaflor, Sonnenblume, *Calendula*, *Mortierella* oder *Saccharomyces cerevisiae*. Prinzipiell sind als Wirtsorganismen neben den vorgenannten transgenen Organismen auch transgene Tiere vorteilhaft nicht-humane Tiere geeignet beispielsweise *C. elegans*.

- 25 Nutzbare Wirtszellen sind weiterhin genannt in: Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990).

Verwendbare Expressionsstämme z.B. solche, die eine geringere Proteaseaktivität aufweisen sind beschrieben in: Gottesman, S., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, California (1990) 119-128.

- 30 Hierzu gehören Pflanzenzellen und bestimmte Gewebe, Organe und Teile von Pflanzen in all ihren Erscheinungsformen, wie Antheren, Fasern, Wurzelhaare, Stängel, Embryos, Kalli, Kotelydonen, Petiolen, Erntematerial, pflanzliches Gewebe, reproduktives Gewebe und Zellkulturen, das von der eigentlichen transgenen Pflanze abgeleitet ist und/oder dazu verwendet werden kann, die transgene Pflanze hervor- 35 zubringen.

- Transgene Pflanzen, die die im erfindungsgemäßen Verfahren synthetisierten mehrfach ungesättigten Fettsäuren enthalten, können vorteilhaft direkt vermarktet werden ohne dass die synthetisierten Öle, Lipide oder Fettsäuren isoliert werden müssen. Unter Pflanzen im erfindungsgemäßen Verfahren sind ganze Pflanzen sowie alle 40 Pflanzenteile, Pflanzenorgane oder Pflanzenteile wie Blatt, Stiel, Samen, Wurzel, Knollen, Antheren, Fasern, Wurzelhaare, Stängel, Embryos, Kalli, Kotelydonen,

Petiolen, Erntematerial, pflanzliches Gewebe, reproduktives Gewebe, Zellkulturen, die sich von der transgenen Pflanze ableiten und/oder dazu verwendet werden können, die transgene Pflanze hervorzubringen. Der Samen umfasst dabei alle Samenteile wie die Samenhüllen, Epidermis- und Samenzellen, Endosperm oder Embryogewebe. Die im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Verbindungen können aber auch aus den Organismen vorteilhaft Pflanzen in Form ihrer Öle, Fett, Lipide und/oder freien Fettsäuren isoliert werden. Durch dieses Verfahren hergestellte mehrfach ungesättigten Fettsäuren lassen sich durch Ernten der Organismen entweder aus der Kultur, in der sie wachsen, oder vom Feld ernten. Dies kann über Pressen oder Extraktion der Pflanzenteile bevorzugt der Pflanzensamen erfolgen. Dabei können die Öle, Fette, Lipide und/oder freien Fettsäuren durch sogenanntes kalt schlagen oder kalt pressen ohne Zuführung von Wärme durch Pressen gewonnen werden. Damit sich die Pflanzenteile speziell die Samen leichter aufschließen lassen, werden sie vorher zerkleinert, gedämpft oder geröstet. Die so vorbehandelten Samen können anschließend gepresst werden oder mit Lösungsmittel wie warmen Hexan extrahiert werden. Anschließend wird das Lösungsmittel wieder entfernt. Im Falle von Mikroorganismen werden diese nach Ernte beispielsweise direkt ohne weitere Arbeitsschritte extrahiert oder aber nach Aufschluss über verschiedene dem Fachmann bekannte Methoden extrahiert. Auf diese Weise können mehr als 96 % der im Verfahren hergestellten Verbindungen isoliert werden. Anschließend werden die so erhaltenen Produkte weiter bearbeitet, das heißt raffiniert. Dabei werden zunächst beispielsweise die Pflanzenschleime und Trübstoffe entfernt. Die sogenannte Entschleimung kann enzymatisch oder beispielsweise chemisch/physikalisch durch Zugabe von Säure wie Phosphorsäure erfolgen. Anschließend werden die freien Fettsäuren durch Behandlung mit einer Base beispielsweise Natronlauge entfernt. Das erhaltene Produkt wird zur Entfernung der im Produkt verbliebenen Lauge mit Wasser gründlich gewaschen und getrocknet. Um die noch im Produkt enthaltenen Farbstoffe zu entfernen werden die Produkte einer Bleichung mit beispielsweise Bleicherde oder Aktivkohle unterzogen. Zum Schluss wird das Produkt noch beispielsweise mit Wasserdampf noch desodoriert.

Vorzugsweise sind die durch dieses Verfahren produzierten PUFAs bzw. LCPUFAs C_{18} -, C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuremoleküle vorteilhaft C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuremoleküle mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen. Diese C_{18} -, C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuremoleküle lassen sich aus dem Organismus in Form eines Öls, Lipids oder einer freien Fettsäure isolieren. Geeignete Organismen sind beispielsweise die vorstehend erwähnten. Bevorzugte Organismen sind transgene Pflanzen.

Eine Ausführungsform der Erfindung sind deshalb Öle, Lipide oder Fettsäuren oder Fraktionen davon, die durch das oben beschriebene Verfahren hergestellt worden sind, besonders bevorzugt Öl, Lipid oder eine Fettsäurezusammensetzung, die PUFAs umfassen und von transgenen Pflanzen herrühren.

Diese Öle, Lipide oder Fettsäuren enthalten wie oben beschrieben vorteilhaft 6 bis 15 % Palmitinsäure, 1 bis 6 % Stearinsäure; 7 – 85 % Ölsäure; 0,5 bis 8 % Vaccensäure, 0,1 bis 1 % Arachinsäure, 7 bis 25 % gesättigte Fettsäuren, 8 bis 85 % einfach ungesättigte Fettsäuren und 60 bis 85 % mehrfach ungesättigte Fettsäuren jeweils bezogen auf 100 % und auf den Gesamtfettsäuregehalt der Organismen. Als vorteilhafte mehrfach ungesättigte Fettsäure sind in den Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische bevorzugt mindestens 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 oder 1 % bezogen auf den Gesamtfettsäuregehalt an Arachidonsäure enthalten. Weiterhin enthalten die Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, vorteilhaft Fettsäuren ausgewählt aus der Gruppe der Fettsäuren Erucasäure (13-Docosaensäure), Sterculinsäure (9,10-Methylene octadec-9-enonsäure), Malvalinsäure (8,9-Methylen Heptadec-8-enonsäure), Chaulmoogrinsäure (Cyclopenten-dodecansäure), Furan-Fettsäure (9,12-Epoxy-octadeca-9,11-dienonsäure), Vernonsäure (9,10-Epoxyoctadec-12-enonsäure), Tarinsäure (6-Octadecynonsäure), 6-Nonadecynonsäure, Santalbinsäure (11-Octadecen-9-ynoic acid), 6,9-Octadecenynonsäure, Pyrulinsäure (10-Heptadecen-8-ynonsäure), Crepenyninsäure (9-Octadecen-12-ynonsäure), 13,14-Dihydrooropheinsäure, Octadecen-13-ene-9,11-diynonsäure, Petroselensäure (cis-6-Octadecenonsäure), 9c,12t-Octadecadiensäure, Calendulasäure (8t10t12c-Octadecatriensäure), Catalpinsäure (9t11t13c-Octadecatriensäure), Eleosterinsäure (9c11t13t-Octadecatriensäure), Jacarinsäure (8c10t12c-Octadecatriensäure), Punicinsäure (9c11t13c-Octadecatriensäure), Parinarinsäure (9c11t13t15c-Octadecatetraensäure), Pinolensäure (all-cis-5,9,12-Octadecatriensäure), Laballensäure (5,6-Octadecadienallensäure), Ricinolsäure (12-Hydroxyölsäure) und/oder Coriolsäure (13-Hydroxy-9c,11t-Octadecadienonsäure). Vorteilhaft enthalten die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische weniger als 0,1 % bezogen auf die Gesamtfettsäuren oder keine Butterbuttersäure, kein Cholesterin, keine Clupanodonsäure (= Docosapentaensäure, C22:5^{Δ4,8,12,15,21}) sowie keine Nisinsäure (Tetracosahexaensäure, C23:6^{Δ3,8,12,15,18,21}).

Vorteilhaft enthalten die erfindungsgemäßen Öle, Lipide oder Fettsäuren mindestens 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 % oder 5 %, vorteilhaft mindestens 6 %, 7 %, 8 %, 9 % oder 10 %, besonders vorteilhaft mindestens 11 %, 12 %, 13 %, 14 % oder 15 % ARA oder mindestens 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 % oder 5 %, vorteilhaft mindestens 6 %, oder 7 %, besonders vorteilhaft mindestens 8 %, 9 % oder 10 % EPA und/oder DHA bezogen auf den Gesamtfettsäuregehalt des Produktionsorganismus vorteilhaft einer Pflanze, besonders vorteilhaft einer Ölfruchtpflanze wie Soja, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, Färbersafflor, Flachs, Hanf, Rizinus, Calendula, Erdnuss, Kakaobohne, Sonnenblume oder den oben genannten weiteren ein- oder zweikeimblättrigen Ölfruchtpflanzen.

Eine weitere erfindungsgemäße Ausführungsform ist die Verwendung des Öls, Lipids, der Fettsäuren und/oder der Fettsäurezusammensetzung in Futtermitteln, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika. Die erfindungsgemäßen Öle, Lipide, Fettsäuren oder Fettsäuregemische können in der dem Fachmann bekannten Weise zur Abmischung mit anderen Ölen, Lipiden, Fettsäuren oder Fettsäuregemischen tierischen Ursprungs wie z.B. Fischölen verwendet werden. Auch diese Öle, Lipide,

Fettsäuren oder Fettsäuregemische, die aus pflanzlichen und tierischen Bestandteilen bestehen, können zur Herstellung von Futtermitteln, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika verwendet werden.

5 Unter dem Begriff "Öl", "Lipid" oder "Fett" wird ein Fettsäuregemisch verstanden, das ungesättigte, gesättigte, vorzugsweise veresterte Fettsäure(n) enthält. Bevorzugt ist, dass das Öl, Lipid oder Fett einen hohen Anteil an mehrfach ungesättigten freien oder vorteilhaft veresterten Fettsäure(n), insbesondere Linolsäure, γ -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure, Arachidonsäure, α -Linolensäure, Stearidonsäure, Eicosatetraensäure, Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure oder Docosahexaensäure hat. Vorzugs-
10 weise ist der Anteil an ungesättigten veresterten Fettsäuren ungefähr 30 %, mehr bevorzugt ist ein Anteil von 50 %, noch mehr bevorzugt ist ein Anteil von 60 %, 70 %, 80 % oder mehr. Zur Bestimmung kann z.B. der Anteil an Fettsäure nach Überführung der Fettsäuren in die Methylestern durch Umesterung gaschromatographisch bestimmt werden. Das Öl, Lipid oder Fett kann verschiedene andere gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren, z.B. Calendulasäure, Palmitin-, Palmitolein-, Stearin-, Ölsäure etc., ent-
15 halten. Insbesondere kann je nach Ausgangsorganismus der Anteil der verschiedenen Fettsäuren in dem Öl oder Fett schwanken.

Bei den im Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit vorteilhaft mindestens zwei Doppelbindungen enthalten, handelt es sich wie oben beschrieben
20 beispielsweise um Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide, Phospholipide, Monoacylglycerin, Diacylglycerin, Triacylglycerin oder sonstige Fettsäureester.

Aus den so im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit vorteilhaft mindestens fünf oder sechs Doppelbindungen lassen sich die enthaltenden mehrfach ungesättigten Fettsäuren beispielsweise über eine Alkali-
25 behandlung beispielsweise wäßrige KOH oder NaOH oder saure Hydrolyse vorteilhaft in Gegenwart eines Alkohols wie Methanol oder Ethanol oder über eine enzymatische Abspaltung freisetzen und isolieren über beispielsweise Phasentrennung und anschließender Ansäuerung über z.B. H_2SO_4 . Die Freisetzung der Fettsäuren kann auch direkt ohne die vorhergehend beschriebene Aufarbeitung erfolgen.

30 Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren können nach Einbringung in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanzenzelle bzw. Pflanze entweder auf einem separaten Plasmid liegen oder vorteilhaft in das Genom der Wirtszelle integriert sein. Bei Integration in das Genom kann die Integration zufallsgemäß sein oder durch derartige Rekombination erfolgen, dass das native Gen durch die eingebrachte Kopie ersetzt
35 wird, wodurch die Produktion der gewünschten Verbindung durch die Zelle moduliert wird, oder durch Verwendung eines Gens in trans, so dass das Gen mit einer funktionellen Expressionseinheit, welche mindestens eine die Expression eines Gens gewährende Sequenz und mindestens eine die Polyadenylierung eines funktionell transkribierten Gens gewährende Sequenz enthält, funktionell verbunden ist. Vorteilhaft
40 werden die Nukleinsäuren über Multiexpressionskassetten oder Konstrukte zur multi-

parallelen Expression in die Organismen vorteilhaft zur multiparallelen samen-spezifischen Expression von Genen in die Pflanzen gebracht.

5 Moose und Algen sind die einzigen bekannten Pflanzensysteme, die erhebliche Mengen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wie Arachidonsäure (ARA) und/oder Eicosapentaensäure (EPA) und/oder Docosahexaensäure (DHA) herstellen. Moose
10 enthalten PUFAs in Membranlipiden während Algen, algenverwandte Organismen und einige Pilze auch nennenswerte Mengen an PUFAs in der Triacylglycerolfraktion akkumulieren. Daher eignen sich Nukleinsäuremoleküle, die aus solchen Stämmen isoliert werden, die PUFAs auch in der Triacylglycerolfraktion akkumulieren, besonders vorteilhaft für das erfindungsgemäße Verfahren und damit zur Modifikation des Lipid- und PUFA-Produktionssystems in einem Wirt, insbesondere Pflanzen, wie Ölfuchtpflanzen, beispielsweise Raps, Canola, Lein, Hanf, Soja, Sonnenblumen, Borretsch. Sie sind deshalb vorteilhaft im erfindungsgemäßen Verfahren verwendbar.

15 Als Substrate der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- und/oder ω -3-Desaturase-Aktivität codieren, und/oder den weiteren verwendeten Nukleinsäuren wie den Nukleinsäuren, die für Polypeptide des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe
20 Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenase(n), Lipoxygenase(n), Triacylglycerol-Lipase(n), Allenoxid-Synthase(n), Hydroperoxid-Lyase(n) oder Fettsäure-Elongase(n) codieren eignen sich vorteilhaft C_{16} -, C_{18} - oder C_{20} -Fettsäuren. Bevorzugt werden die im Verfahren
25 als Substrate umgesetzten Fettsäuren in Form ihrer Acyl-CoA-Ester und/oder ihrer Phospholipid-Ester umgesetzt.

30 Zur Herstellung der erfindungsgemäßen langkettigen PUFAs müssen die mehrfach ungesättigten C_{18} -Fettsäuren zunächst durch die enzymatische Aktivität einer Desaturase zunächst desaturiert und anschließend über eine Elongase um mindestens zwei Kohlenstoffatome verlängert werden. Nach einer Elongationsrunde führt diese Enzymaktivität zu C_{20} -Fettsäuren, und nach zwei Elongationsrunden zu C_{22} -Fettsäuren. Die Aktivität der erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Desaturasen und Elongasen führt vorzugsweise zu C_{18} -, C_{20} - und/oder C_{22} -Fettsäuren vorteilhaft mit mindestens
35 zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt zu C_{20} - und/oder C_{22} -Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, ganz besonders bevorzugt mit fünf oder sechs Doppelbindungen im Molekül. Nachdem eine erste Desaturierung und die Verlängerung stattgefunden hat, können weitere Desaturierungs- und Elongierungsschritte
40 wie z.B. eine solche Desaturierung in Δ -5- und Δ -4-Position in erfolgen. Besonders bevorzugt als Produkte des erfindungsgemäßen Verfahrens sind Dihomo- γ -linolensäure, Arachidonsäure, Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure und/oder Docosa-

hesaensäure. Die C₂₀-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen in der Fettsäure können durch die erfindungsgemäße enzymatische Aktivität in Form der freien Fettsäure oder in Form der Ester, wie Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide, Phosphoglyceride, Monoacylglycerin, Diacylglycerin oder Triacylglycerin, verlängert werden.

Der bevorzugte Biosyntheseort von Fettsäuren, Ölen, Lipiden oder Fette in den vorteilhaft verwendeten Pflanzen ist beispielsweise im allgemeinen der Samen oder Zellschichten des Samens, so dass eine samenspezifische Expression der im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren sinnvoll ist. Es ist jedoch naheliegend, dass die Biosynthese von Fettsäuren, Ölen oder Lipiden nicht auf das Samengewebe beschränkt sein muss, sondern auch in allen übrigen Teilen der Pflanze – beispielsweise in Epidermiszellen oder in den Knollen – gewebespezifisch erfolgen kann.

Werden im erfindungsgemäßen Verfahren als Organismen Mikroorganismus wie Hefen wie *Saccharomyces* oder *Schizosaccharomyces*, Pilze wie *Mortierella*, *Aspergillus*, *Phytophthora*, *Entomophthora*, *Mucor* oder *Thraustochytrium* Algen wie *Isochrysis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Phaeodactylum* oder *Cryptocodinium* verwendet, so werden diese Organismen vorteilhaft fermentativ angezogen.

Durch die Verwendung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren, die für eine Δ -5-Elongase codieren, können im Verfahren die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren mindestens um 5 %, bevorzugt mindestens um 10 %, besonders bevorzugt mindestens um 20 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 50 % gegenüber dem Wildtyp der Organismen, die die Nukleinsäuren nicht rekombinant enthalten, erhöht werden.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren können die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den im Verfahren verwendeten Organismen prinzipiell auf zwei Arten erhöht werden. Es kann vorteilhaft der Pool an freien mehrfach ungesättigten Fettsäuren und/oder der Anteil der über das Verfahren hergestellten veresterten mehrfach ungesättigten Fettsäuren erhöht werden. Vorteilhaft wird durch das erfindungsgemäße Verfahren der Pool an veresterten mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den transgenen Organismen erhöht.

Werden im erfindungsgemäßen Verfahren als Organismen Mikroorganismen verwendet, so werden sie je nach Wirtsorganismus in dem Fachmann bekannter Weise angezogen bzw. gezüchtet. Mikroorganismen werden in der Regel in einem flüssigen Medium, das eine Kohlenstoffquelle meist in Form von Zuckern, eine Stickstoffquelle meist in Form von organischen Stickstoffquellen wie Hefeextrakt oder Salzen wie Ammoniumsulfat, Spurenelemente wie Eisen-, Mangan-, Magnesiumsalze und gegebenenfalls Vitamine enthält, bei Temperaturen zwischen 0°C und 100°C, bevorzugt zwischen 10°C bis 60°C unter Sauerstoffbegasung angezogen. Dabei kann der pH der Nährflüssigkeit auf einen festen Wert gehalten werden, das heißt während der Anzucht reguliert werden oder nicht. Die Anzucht kann batch weise, semi batch weise oder kontinuierlich erfolgen. Nährstoffe können zu Beginn der Fermentation vorgelegt

oder semikontinuierlich oder kontinuierlich nachgefüttert werden. Die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren können nach dem Fachmann bekannten Verfahren wie oben beschrieben aus den Organismen isoliert werden. Beispielsweise über Extraktion, Destillation, Kristallisation, ggf. Salzfällung und/oder Chromatographie.

5 Die Organismen können dazu vorher noch vorteilhaft aufgeschlossen werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird, wenn es sich bei den Wirtsorganismen um Mikroorganismen handelt, vorteilhaft bei einer Temperatur zwischen 0°C bis 95°, bevorzugt zwischen 10°C bis 85°C, besonders bevorzugt zwischen 15°C bis 75°C, ganz besonders bevorzugt zwischen 15°C bis 45°C durchgeführt.

10 Der pH-Wert wird dabei vorteilhaft zwischen pH 4 und pH12, bevorzugt zwischen pH 6 und pH9, besonders bevorzugt zwischen pH 7 und pH8 gehalten.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann batchweise, semi-batchweise oder kontinuierlich betrieben werden. Eine Zusammenfassung über bekannte Kultivierungsmethoden ist im Lehrbuch von Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) oder im Lehrbuch von Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)) zu finden.

15 Das zu verwendende Kulturmedium hat in geeigneter Weise den Ansprüchen der jeweiligen Stämme zu genügen. Beschreibungen von Kulturmedien verschiedener Mikroorganismen sind im Handbuch "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) enthalten.

Diese erfindungsgemäß einsetzbaren Medien umfassen wie oben beschrieben gewöhnlich eine oder mehrere Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganische Salze, Vitamine und/oder Spurenelemente.

25 Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr gute Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vorteilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere
30 mögliche Kohlenstoffquellen sind Öle und Fette wie z.B. Sojaöl, Sonnenblumenöl, Erdnussöl und/oder Kokosfett, Fettsäuren wie z.B. Palmitinsäure, Stearinsäure und/oder Linolsäure, Alkohole und/oder Polyalkohole wie z. B. Glycerin, Methanol und/oder Ethanol und/oder organische Säuren wie z.B. Essigsäure und/oder Milchsäure.
35

Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder Materialien, die diese Verbindungen enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak in flüssiger- oder gasform oder Ammoniumsalze, wie Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat, Ammoniumcarbonat oder

Ammoniumnitrat, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe Stickstoffquellen, wie Maisquellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere. Die Stickstoffquellen können einzeln oder als Mischung verwendet werden.

- 5 Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein können, umfassen die Chlorid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium, Mangan, Zink, Kupfer und Eisen.

- 10 Als Schwefelquelle für die Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere von Methionin, können anorganische schwefelhaltige Verbindungen wie beispielsweise Sulfate, Sulfite, Dithionite, Tetrathionate, Thiosulfate, Sulfide aber auch organische Schwefelverbindungen, wie Mercaptane und Thiole, verwendet werden.

Als Phosphorquelle können Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat oder Dikaliumhydrogenphosphat oder die entsprechenden Natrium haltigen Salze verwendet werden.

- 15 Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten. Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure.

- 20 Die erfindungsgemäß zur Kultivierung von Mikroorganismen eingesetzten Fermentationsmedien enthalten üblicherweise auch andere Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen beispielsweise Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthothemat und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen Medienkomponenten, wie Hefeextrakt, Melassen, Maisquellwasser und dergleichen. Dem Kulturmedium können überdies geeignete Vorstufen zugesetzt werden. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. Information über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3).
- 25 Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion, DIFCO) und dergleichen.

- 30 Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu Beginn der Anzucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.
- 35 Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise zwischen 15°C und 45°C, vorzugsweise bei 25°C bis 40°C und kann während des Experimentes konstant gehalten oder verändert werden. Der pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen. Der pH-Wert für die Anzucht lässt sich während der Anzucht durch Zugabe von basischen Verbindungen wie Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid,

Ammoniak bzw. Ammoniakwasser oder sauren Verbindungen wie Phosphorsäure oder Schwefelsäure kontrollieren. Zur Kontrolle der Schaumentwicklung können Antischaummittel wie z. B. Fettsäurepolyglykolester, eingesetzt werden. Zur Aufrechterhaltung der Stabilität von Plasmiden können dem Medium geeignete selektiv wirkende Stoffe, wie z. B. Antibiotika, hinzugefügt werden. Um aerobe Bedingungen aufrechtzuerhalten, werden Sauerstoff oder Sauerstoff haltige Gasmischungen, wie z.B. Umgebungsluft, in die Kultur eingetragen. Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise bei 20°C bis 45°C und vorzugsweise bei 25°C bis 40°C. Die Kultur wird solange fortgesetzt, bis sich ein Maximum des gewünschten Produktes gebildet hat. Dieses Ziel wird normalerweise innerhalb von 10 Stunden bis 160 Stunden erreicht.

Die so erhaltenen, insbesondere mehrfach ungesättigte Fettsäuren enthaltenden, Fermentationsbrühen haben üblicherweise eine Trockenmasse von 7,5 bis 25 Gew.-%.

Die Fermentationsbrühe kann anschließend weiterverarbeitet werden. Je nach Anforderung kann die Biomasse ganz oder teilweise durch Separationsmethoden, wie z.B. Zentrifugation, Filtration, Dekantieren oder einer Kombination dieser Methoden aus der Fermentationsbrühe entfernt oder vollständig in ihr belassen werden. Vorteilhaft wird die Biomasse nach Abtrennung aufgearbeitet.

Die Fermentationsbrühe kann aber auch ohne Zellabtrennung mit bekannten Methoden, wie z.B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers, Dünnschichtverdampfers, Fallfilmverdampfers, durch Umkehrosmose, oder durch Nanofiltration, eingedickt beziehungsweise aufkonzentriert werden. Diese aufkonzentrierte Fermentationsbrühe kann schließlich zur Gewinnung der darin enthaltenen Fettsäuren aufgearbeitet werden.

Die im Verfahren gewonnenen Fettsäuren eignen sich auch als Ausgangsmaterial für die chemische Synthese von weiteren Wertprodukten. Sie können beispielsweise in Kombination miteinander oder allein zur Herstellung von Pharmaka, Nahrungsmittel, Tierfutter oder Kosmetika verwendet werden.

Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongase codieren, wobei die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten Δ -5-Elongasen C_{20} -Fettsäuren mit mindestens vier Doppelbindungen im Fettsäuremolekül umsetzen; die vorteilhaft letztlich in Diacylglyceride und/oder Triacylglyceride eingebaut werden.

Vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Sequenz,

b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder

c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 codieren und eine Δ -5-Elongaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -6-Elongaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69 oder in SEQ ID NO: 81 dargestellten Sequenz,

b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70 oder SEQ ID NO: 82 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder

c) Derivate der in SEQ ID NO: 69 oder SEQ ID NO: 81 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70 oder SEQ ID NO: 82 codieren und eine Δ -6-Elongaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit ω -3-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Sequenz,

b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder

c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 aufweisen und eine ω -3-Desaturaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind Genkonstrukte, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID

NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 enthalten, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen verbunden

5 ist. Zusätzlich können weitere Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) im Genkonstrukt enthalten sein. Vorteilhaft sind zusätzlich Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe der Δ -4-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, 10 Δ -9-Desaturase, Δ -12-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -9-Elongase oder ω -3-Desaturase enthalten.

Vorteilhaft stammen alle die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen aus einem eukaryontischen Organismus wie einer Pflanze, einem Mikroorganismus oder einem Tier. Bevorzugt stammen die Nukleinsäuresequenzen 20 aus der Ordnung Salmoniformes, Algen wie Mantoniella oder Ostreococcus, Pilzen wie der Gattung Phytophthora oder von Diatomeen wie den Gattungen Thallasiosira oder Crythecodinium.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen, die für Proteine mit ω -3-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, 25 Δ -9-Desaturase-, Δ -12-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- oder Δ -9-Elongase-Aktivität codieren, werden vorteilhaft allein oder bevorzugt in Kombination in einer Expressionskassette (= Nukleinsäurekonstrukt), die die Expression der Nukleinsäuren in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanze oder einem Mikroorganismus ermöglicht, eingebracht. Es kann im Nukleinsäurekonstrukt mehr als eine Nukleinsäuresequenz 30 einer enzymatischen Aktivität wie z.B. einer Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase enthalten sein.

Zum Einbringen werden die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren vorteilhaft einer Amplifikation und Ligation in bekannter Weise unterworfen. Vorzugsweise geht man 35 in Anlehnung an das Protokoll der Pfu-DNA-Polymerase oder eines Pfu/Taq-DNA-Polymerasegemisches vor. Die Primer werden in Anlehnung an die zu amplifizierende Sequenz gewählt. Zweckmäßigerweise sollten die Primer so gewählt werden, dass das Amplifikat die gesamte kodogene Sequenz vom Start- bis zum Stop-Kodon umfasst. Im Anschluss an die Amplifikation wird das Amplifikat zweckmäßigerweise analysiert. Beispielsweise kann die Analyse nach gelelektrophoretischer Auftrennung hinsichtlich 40 Qualität und Quantität erfolgen. Im Anschluss kann das Amplifikat nach einem Standardprotokoll gereinigt werden (z.B. Qiagen). Ein Aliquot des gereinigten Amplifikats steht dann für die nachfolgende Klonierung zur Verfügung. Geeignete Klonie-

rungsvektoren sind dem Fachmann allgemein bekannt. Hierzu gehören insbesondere Vektoren, die in mikrobiellen Systemen replizierbar sind, also vor allem Vektoren, die eine effiziente Klonierung in Hefen oder Pilze gewährleisten, und die stabile Transformation von Pflanzen ermöglichen. Zu nennen sind insbesondere verschiedene für die T-DNA-vermittelte Transformation geeignete, binäre und co-integrierte Vektorsysteme. Derartige Vektorsysteme sind in der Regel dadurch gekennzeichnet, dass sie zumindest die für die Agrobakterium-vermittelte Transformation benötigten vir-Gene sowie die T-DNA begrenzenden Sequenzen (T-DNA-Border) beinhalten. Vorzugsweise umfassen diese Vektorsysteme auch weitere cis-regulatorische Regionen wie Promotoren und Terminatoren und/oder Selektionsmarker, mit denen entsprechend transformierte Organismen identifiziert werden können. Während bei co-integrierten Vektorsystemen vir-Gene und T-DNA-Sequenzen auf demselben Vektor angeordnet sind, basieren binäre Systeme auf wenigstens zwei Vektoren, von denen einer vir-Gene, aber keine T-DNA und ein zweiter T-DNA, jedoch kein vir-Gen trägt. Dadurch sind letztere Vektoren relativ klein, leicht zu manipulieren und sowohl in *E.-coli* als auch in *Agrobacterium* zu replizieren. Zu diesen binären Vektoren gehören Vektoren der Serien pBIB-HYG, pPZP, pBecks, pGreen. Erfindungsgemäß bevorzugt verwendet werden Bin19, pBI101, pBinAR, pGPTV und pCambia. Eine Übersicht über binäre Vektoren und ihre Verwendung gibt Hellens et al, Trends in Plant Science (2000) 5, 446-451. Für die Vektorpräparation können die Vektoren zunächst mit Restriktionsendonuklease(n) linearisiert und dann in geeigneter Weise enzymatisch modifiziert werden. Im Anschluss wird der Vektor gereinigt und ein Aliquot für die Klonierung eingesetzt. Bei der Klonierung wird das enzymatisch geschnittenen und erforderlichenfalls gereinigten Amplifikat mit ähnlich präparierten Vektorfragmenten mit Einsatz von Ligase kloniert. Dabei kann ein bestimmtes Nukleinsäurekonstrukt bzw. Vektor- oder Plasmidkonstrukt einen oder auch mehrere kodogene Genabschnitte aufweisen. Vorzugsweise sind die kodogenen Genabschnitte in diesen Konstrukten mit regulatorischen Sequenzen funktional verknüpft. Zu den regulatorischen Sequenzen gehören insbesondere pflanzliche Sequenzen wie die oben beschriebenen Promotoren und Terminatoren. Die Konstrukte lassen sich vorteilhafterweise in Mikroorganismen, insbesondere *Escherichia coli* und *Agrobacterium tumefaciens*, unter selektiven Bedingungen stabil propagieren und ermöglichen einen Transfer von heterologer DNA in Pflanzen oder Mikroorganismen.

Unter der vorteilhaften Verwendung von Klonierungsvektoren können die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die erfinderischen Nukleinsäuren und Nukleinsäurekonstrukte in Organismen wie Mikroorganismen oder vorteilhaft Pflanzen eingebracht werden und damit bei der Pflanzentransformation verwendet werden, wie denjenigen, die veröffentlicht sind in und dort zitiert sind: Plant Molecular Biology and Biotechnology (CRC Press, Boca Raton, Florida), Kapitel 6/7, S. 71-119 (1993); F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, 15-38; B. Jené et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-143; Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225). Die im Verfahren ver-

wendeten Nukleinsäuren, die erfinderischen Nukleinsäuren und Nukleinsäure-konstrukte und/oder Vektoren lassen sich damit zur gentechnologischen Veränderung eines breiten Spektrums an Organismen vorteilhaft an Pflanzen verwenden, so dass diese bessere und/oder effizientere Produzenten von PUFAs werden.

- 5 Es gibt eine Reihe von Mechanismen, durch die eine Veränderung des erfindungs-
gemäßen Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase-Proteins sowie der
weiteren im Verfahren verwendeten Proteine wie die Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-,
10 Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase- oder Δ -4-Desaturase-Proteine
möglich ist, so dass die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der
vorteilhaft mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einer Pflanze bevorzugt in einer
Ölfruchtpflanze oder einem Mikroorganismus aufgrund dieses veränderten Proteins
15 direkt beeinflusst werden kann. Die Anzahl oder Aktivität der ω -3-Desaturase-, Δ -9-
Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-
Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Proteine oder -Gene kann erhöht werden, so dass
größere Mengen der Genprodukte und damit letztlich größere Mengen der Verbin-
dungen der allgemeinen Formel I hergestellt werden. Auch eine de novo Synthese in
einem Organismus, dem die Aktivität und Fähigkeit zur Biosynthese der Verbindungen
vor dem Einbringen des/der entsprechenden Gens/Gene fehlte, ist möglich. Ent-
sprechendes gilt für die Kombination mit weiteren Desaturasen oder Elongasen oder
20 weiteren Enzymen aus dem Fettsäure- und Lipidstoffwechsel. Auch die Verwendung
verschiedener divergenter, d.h. auf DNA-Sequenzebene unterschiedlicher Sequenzen
kann dabei vorteilhaft sein bzw. die Verwendung von Promotoren zur Genexpression,
die eine andere zeitliche Genexpression z.B. abhängig vom Reifegrad eines Samens
oder Öl-speichernden Gewebes ermöglicht.
- 25 Durch das Einbringen eines ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-,
 Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -4-
Desaturase-Genes in einen Organismus allein oder in Kombination mit anderen Genen
in eine Zelle kann nicht nur den Biosynthesefluss zum Endprodukt erhöht, sondern
auch die entsprechende Triacylglycerin-Zusammensetzung erhöht oder de novo
30 geschaffen werden. Ebenso kann die Anzahl oder Aktivität anderer Gene, die am
Import von Nährstoffen, die zur Biosynthese einer oder mehrerer Fettsäuren, Ölen,
polaren und/oder neutralen Lipiden nötig sind, erhöht sein, so dass die Konzentration
dieser Vorläufer, Cofaktoren oder Zwischenverbindungen innerhalb der Zellen oder
innerhalb des Speicherkompartiments erhöht ist, wodurch die Fähigkeit der Zellen
35 zur Produktion von PUFAs, wie im folgenden beschrieben, weiter gesteigert wird.
Durch Optimierung der Aktivität oder Erhöhung der Anzahl einer oder mehrerer
 ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-,
 Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Gene, die an der Biosynthese
dieser Verbindungen beteiligt sind, oder durch Zerstören der Aktivität einer oder
40 mehrerer Gene, die am Abbau dieser Verbindungen beteiligt sind, kann es möglich
sein, die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion von Fettsäure- und
Lipidmolekülen aus Organismen und vorteilhaft aus Pflanzen zu steigern.

Die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten isolierten Nukleinsäuremoleküle codieren für Proteine oder Teile von diesen, wobei die Proteine oder das einzelne Protein oder Teile davon eine Aminosäuresequenz enthält, die ausreichend homolog zu einer Aminosäuresequenz ist, die in den Sequenzen SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86 oder SEQ ID NO: 88 dargestellt ist, so dass die Proteine oder Teile davon noch eine ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Aktivität aufweisen. Vorzugsweise haben die Proteine oder Teile davon, die von dem Nukleinsäuremolekül/den Nukleinsäuremolekülen kodiert wird/werden, noch seine wesentliche enzymatische Aktivität und die Fähigkeit, am Stoffwechsel von zum Aufbau von Zellmembranen oder Lipidkörperchen in Organismen vorteilhaft in Pflanzen notwendigen Verbindungen oder am Transport von Molekülen über diese Membranen teilzunehmen. Vorteilhaft sind die von den Nukleinsäuremolekülen kodierten Proteine zu mindestens etwa 50 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 %, 80 % oder 90 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr identisch zu den in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86 oder SEQ ID NO: 88 dargestellten Aminosäuresequenzen. Im Sinne der Erfindung ist unter Homologie oder homolog, Identität oder identisch zu verstehen.

Die Homologie wurde über den gesamten Aminosäure- bzw. Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für das Vergleichen verschiedener Sequenzen stehen dem Fachmann eine Reihe von Programmen, die auf verschiedenen Algorithmen beruhen zur Verfügung. Dabei liefern die Algorithmen von Needleman und Wunsch oder Smith und Waterman besonders zuverlässige Ergebnisse. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))], die im GCG Software-Packet [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in

Prozent angegebenen Sequenzhomologiewerte wurden mit dem Programm GAP über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Diese Einstellungen wurden, falls nicht anders angegeben, immer als Standardeinstellungen für Sequenzvergleiche verwendet wurden.

Unter wesentlicher enzymatischer Aktivität der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -4-Desaturase ist zu verstehen, dass sie gegenüber den durch die Sequenz mit SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 und deren Derivate codierten Proteinen/Enzymen im Vergleich noch mindestens eine enzymatische Aktivität von mindestens 10 %, bevorzugt 20 %, besonders bevorzugt 30 % und ganz besonders 40 % aufweisen und damit am Stoffwechsel von zum Aufbau von Fettsäuren, Fettsäureester wie Diacylglyceride und/oder Triacylglyceride in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanze oder Pflanzenzelle notwendigen Verbindungen oder am Transport von Molekülen über Membranen teilnehmen können, wobei C_{18} -, C_{20} - oder C_{22} -Kohlenstoffketten im Fettsäuremolekül mit Doppelbindungen an mindestens zwei, vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Stellen gemeint sind.

Vorteilhaft im Verfahren verwendbare Nukleinsäuren stammen aus Bakterien, Pilzen, Diatomeen, Tieren wie *Caenorhabditis* oder *Oncorhynchus* oder Pflanzen wie Algen oder Moosen wie den Gattungen *Shewanella*, *Physcomitrella*, *Thraustochytrium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Ceratodon*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Isochrysis*, *Aleurita*, *Muscarioides*, *Mortierella*, *Borago*, *Phaeodactylum*, *Cryptocodinium*, speziell aus den Gattungen und Arten *Oncorhynchus mykiss*, *Thallasiosira pseudonona*, *Mantoniella squamata*, *Ostreococcus* sp., *Ostreococcus tauri*, *Euglena gracilis*, *Physcomitrella patens*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium gramineum*, *Cryptocodinium cohnii*, *Ceratodon purpureus*, *Isochrysis galbana*, *Aleurita farinosa*, *Thraustochytrium* sp., *Muscarioides viillii*, *Mortierella alpina*, *Borago officinalis*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Caenorhabditis elegans* oder besonders vorteilhaft aus *Oncorhynchus mykiss*, *Thallasiosira pseudonona* oder *Cryptocodinium cohnii*.

Alternativ können im erfindungsgemäßen Verfahren Nukleotidsequenzen verwendet werden, die für ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -4-Desaturase codieren und die an eine Nukleotidsequenz, wie in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15,

5 SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25,
SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35,
SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45,
SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59,
SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69,
SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79,
SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 dargestellt,
vorteilhaft unter stringenten Bedingungen hybridisieren.

10 Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen werden vorteilhaft in einer
Expressionskassette, die die Expression der Nukleinsäuren in Organismen wie
Mikroorganismen oder Pflanzen ermöglicht, eingebracht.

5 Dabei werden die Nukleinsäuresequenzen, die für die ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase,
 Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase oder
 Δ -4-Desaturase codieren, mit einem oder mehreren Regulationssignalen vorteilhafter-
weise zur Erhöhung der Genexpression funktionell verknüpft. Diese regulatorischen
Sequenzen sollen die gezielte Expression der Gene und der Proteinexpression
ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das
Gen erst nach Induktion exprimiert und/oder überexprimiert wird, oder dass es sofort
20 exprimiert und/oder überexprimiert wird. Beispielsweise handelt es sich bei diesen
regulatorischen Sequenzen um Sequenzen an die Induktoren oder Repressoren
binden und so die Expression der Nukleinsäure regulieren. Zusätzlich zu diesen neuen
Regulationssequenzen oder anstelle dieser Sequenzen kann die natürliche Regulation
dieser Sequenzen vor den eigentlichen Strukturgenen noch vorhanden sein und
gegebenenfalls genetisch verändert worden sein, so dass die natürliche Regulation
25 ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht wurde. Die Expressionskassette
(= Expressionskonstrukt = Genkonstrukt) kann aber auch einfacher aufgebaut sein,
das heißt es wurden keine zusätzlichen Regulationssignale vor die Nukleinsäurese-
quenz oder dessen Derivate inseriert und der natürliche Promotor mit seiner Regu-
lation wurde nicht entfernt. Stattdessen wurde die natürliche Regulationssequenz so
30 mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und/oder die Genexpression gesteigert
wird. Diese veränderten Promotoren können in Form von Teilsequenzen (= Promotor
mit Teilen der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen) auch allein vor das natür-
liche Gen zur Steigerung der Aktivität gebracht werden. Das Genkonstrukt kann außer-
dem vorteilhafterweise auch eine oder mehrere sogenannte "enhancer Sequenzen"
35 funktionell verknüpft mit dem Promotor enthalten, die eine erhöhte Expression der
Nukleinsäuresequenz ermöglichen. Auch am 3'-Ende der DNA-Sequenzen können
zusätzliche vorteilhafte Sequenzen inseriert werden wie weitere regulatorische Ele-
mente oder Terminatoren. Die ω -3-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-,
 Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- und/oder Δ -9-Elon-
40 gase-Gene können in einer oder mehreren Kopien in der Expressionskassette
(= Genkonstrukt) enthalten sein. Vorteilhaft liegt nur jeweils eine Kopie der Gene in
der Expressionskassette vor. Dieses Genkonstrukt oder die Genkonstrukte können
zusammen im Wirtsorganismus exprimiert werden. Dabei kann das Genkonstrukt oder

die Genkonstrukte in einem oder mehreren Vektoren inseriert sein und frei in der Zelle vorliegen oder aber im Genom inseriert sein. Es ist vorteilhaft für die Insertion weiterer Gene im Wirtsgenom, wenn die zu exprimierenden Gene zusammen in einem Genkonstrukt vorliegen.

- 5 Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine
- 10 Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sind ein oder mehrere Genkonstrukte, die eine oder mehrere Sequenzen enthalten, die durch SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 oder dessen Derivate definiert sind und für Polypeptide gemäß SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86 oder SEQ ID NO: 88 kodieren. Die genannten ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Proteine führen dabei vorteilhaft zu einer Desaturierung oder Elongierung von Fettsäuren, wobei das Substrat vorteilhaft ein, zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen aufweist und vorteilhaft 18, 20 oder 22 Kohlenstoffatome im Fettsäuremolekül aufweist. Gleiches gilt für ihre Homologen, Derivate oder Analoga, die funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen, vorteilhafterweise zur Steigerung der Genexpression, verbunden sind.

- 40 Vorteilhafte Regulationssequenzen für das neue Verfahren liegen beispielsweise in Promotoren vor, wie dem *cos*-, *tac*-, *trp*-, *tet*-, *trp-tet*-, *lpp*-, *lac*-, *lpp-lac*-, *lacIq*-, *T7*-, *T5*-, *T3*-, *gal*-, *trc*-, *ara*-, *SP6*-, λ -PR- oder λ -PL-Promotor und werden vorteilhafterweise in Gram-negativen Bakterien angewendet. Weitere vorteilhafte Regu-

lationssequenzen liegen beispielsweise in den Gram-positiven Promotoren amy und SPO2, in den Hefe- oder Pilzpromotoren ADC1, MF α , AC, P-60, CYC1, GAPDH, TEF, rp28, ADH oder in den Pflanzenpromotoren CaMV/35S [Franck et al., Cell 21 (1980) 285–294], PRP1 [Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993)], SSU, OCS, lib4, usp, STLS1, B33, nos oder im Ubiquitin- oder Phaseolin-Promotor vor. In diesem Zusammenhang vorteilhaft sind ebenfalls induzierbare Promotoren, wie die in EP-A-0 388 186 (Benzylsulfonamid-induzierbar), Plant J. 2, 1992:397–404 (Gatz et al., Tetracyclin-induzierbar), EP-A-0 335 528 (Absisinsäure-induzierbar) oder WO 93/21334 (Ethanol- oder Cyclohexenol-induzierbar) beschriebenen Promotoren. Weitere geeignete Pflanzenpromotoren sind der Promotor von cytosolischer FBPase oder der ST-LSI-Promotor der Kartoffel (Stockhaus et al., EMBO J. 8, 1989, 2445), der Phosphoribosylpyrophosphatamidotransferase-Promotor aus Glycine max (Genbank-Zugangsnr. U87999) oder der in EP-A-0 249 676 beschriebene nodienspezifische Promotor. Besonders vorteilhafte Promotoren sind Promotoren, welche die Expression in Geweben ermöglichen, die an der Fettsäurebiosynthese beteiligt sind. Ganz besonders vorteilhaft sind samenspezifische Promotoren, wie der ausführungsgemäße USP Promotor aber auch andere Promotoren wie der LeB4-, DC3, Phaseolin- oder Napin-Promotor. Weitere besonders vorteilhafte Promotoren sind samenspezifische Promotoren, die für monokotyle oder dikotyle Pflanzen verwendet werden können und in US 5,608,152 (Napin-Promotor aus Raps), WO 98/45461 (Oleosin-Promotor aus Arabidopsis), US 5,504,200 (Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris), WO 91/13980 (Bce4-Promotor aus Brassica), von Bäumlein et al., Plant J., 2, 2, 1992:233–239 (LeB4-Promotor aus einer Leguminose) beschrieben sind, wobei sich diese Promotoren für Dikotyledonen eignen. Die folgenden Promotoren eignen sich beispielsweise für Monokotyledonen lpt-2- oder lpt-1-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230), Hordein-Promotor aus Gerste und andere, in WO 99/16890 beschriebene geeignete Promotoren.

Es ist im Prinzip möglich, alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen, wie die oben genannten, für das neue Verfahren zu verwenden. Es ist ebenfalls möglich und vorteilhaft, zusätzlich oder alleine synthetische Promotoren zu verwenden, besonders wenn sie eine Samen-spezifische Expression vermitteln, wie z.B. beschrieben in WO 99/16890.

Um einen besonders hohen Gehalt an PUFAs vor allem in transgenen Pflanzen zu erzielen, sollten die PUFA-Biosynthesegene vorteilhaft samenspezifisch in Ölsaaten exprimiert werden. Hierzu können Samen-spezifische Promotoren verwendet werden, bzw. solche Promotoren die im Embryo und/oder im Endosperm aktiv sind. Samen-spezifische Promotoren können prinzipiell sowohl aus dikotyledonen als auch aus monokotyledonen Pflanzen isoliert werden. Im folgenden sind vorteilhafte bevorzugte Promotoren aufgeführt: USP (= unknown seed protein) und Vicilin (Vicia faba) [Bäumlein et al., Mol. Gen. Genet., 1991, 225(3)], Napin (Raps) [US 5,608,152], Acyl-Carrier Protein (Raps) [US 5,315,001 und WO 92/18634], Oleosin (Arabidopsis thaliana) [WO 98/45461 und WO 93/20216], Phaseolin (Phaseolus vulgaris) [US 5,504,200], Bce4 [WO 91/13980], Leguminosen B4 (LegB4-Promotor) [Bäumlein et al., Plant J.,

2,2, 1992], Lpt2 und lpt1 (Gerste) [WO 95/15389 u. WO95/23230], Samen-spezifische Promotoren aus Reis, Mais u. Weizen [WO 99/16890], Amy32b, Amy 6-6 und Aleurain [US 5,677,474], Bce4 (Raps) [US 5,530,149], Glycinin (Soja) [EP 571 741], Phosphoenol-Pyruvatcarboxylase (Soja) [JP 06/62870], ADR12-2 (Soja) [WO 98/08962], Isocitratlyase (Raps) [US 5,689,040] oder α -Amylase (Gerste) [EP 781 849].

Die Pflanzengenexpression lässt sich auch über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäure-induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

Um eine stabile Integration der Biosynthesegene in die transgene Pflanze über mehrere Generation sicherzustellen, sollte jede der im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für die ω -3-Desaturase, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase und/oder Δ -4-Desaturase codieren, unter der Kontrolle eines eigenen bevorzugt eines unterschiedlichen Promotors exprimiert werden, da sich wiederholende Sequenzmotive zu Instabilität der T-DNA bzw. zu Rekombinationsereignissen führen können. Die Expressionskassette ist dabei vorteilhaft so aufgebaut, dass einem Promotor eine geeignete Schnittstelle zur Insertion der zu exprimierenden Nukleinsäure folgt vorteilhaft in einem Polylinker anschließend gegebenenfalls ein Terminator hinter dem Polylinker liegt. Diese Abfolge wiederholt sich mehrfach bevorzugt drei-, vier- oder fünfmal, so dass bis zu fünf Gene in einem Konstrukt zusammengeführt werden und so zur Expression in die transgene Pflanze eingebracht werden können. Vorteilhaft wiederholt sich die Abfolge bis zu dreimal. Die Nukleinsäuresequenzen werden zur Expression über die geeignete Schnittstelle beispielsweise im Polylinker hinter den Promotor inseriert. Vorteilhaft hat jede Nukleinsäuresequenz ihren eigenen Promotor und gegebenenfalls ihren eigenen Terminator. Derartige vorteilhafte Konstrukte werden beispielsweise in DE 10102337 oder DE 10102338 offenbart (siehe beispielsweise in den angehängten Sequenzprotokollen). Es ist aber auch möglich mehrere Nukleinsäuresequenzen hinter einem Promotor und ggf. vor einem Terminator zu inserieren. Dabei ist die Insertionsstelle bzw. die Abfolge der inserierten Nukleinsäuren in der Expressionskassette nicht von entscheidender Bedeutung, das heißt eine Nukleinsäuresequenz kann an erster oder letzter Stelle in der Kassette inseriert sein, ohne dass dadurch die Expression wesentlich beeinflusst wird. Es können in der Expressionskassette vorteilhaft unterschiedliche Promotoren wie beispielsweise der USP-, LegB4 oder DC3-Promotor und unterschiedliche Terminatoren verwendet werden. Es ist aber auch möglich nur einen Promotortyp in der Kassette zu verwenden. Dies kann jedoch zu unerwünschten Rekombinationsereignissen führen.

Wie oben beschrieben sollte die Transkription der eingebrachten Gene vorteilhaft durch geeignete Terminatoren am 3'-Ende der eingebrachten Biosynthesegene (hinter

dem Stoppcodon) abgebrochen werden. Verwendet werden kann hier z.B. der OCS1 Terminator. Wie auch für die Promotoren, so sollten hier für jedes Gen unterschiedliche Terminatorsequenzen verwendet werden.

- Das Genkonstrukt kann, wie oben beschrieben, auch weitere Gene umfassen, die in die Organismen eingebracht werden sollen. Es ist möglich und vorteilhaft, in die Wirtsorganismen Regulationsgene, wie Gene für Induktoren, Repressoren oder Enzyme, welche durch ihre Enzymaktivität in die Regulation eines oder mehrerer Gene eines Biosynthesewegs eingreifen, einzubringen und darin zu exprimieren. Diese Gene können heterologen oder homologen Ursprungs sein. Weiterhin können vorteilhaft im Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt weitere Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthalten sein oder aber diese Gene können auf einem weiteren oder mehreren weiteren Nukleinsäurekonstrukten liegen. Vorteilhaft werden als Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ein Gen ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenase(n), Lipoxxygenase(n), Triacylglycerol-Lipase(n), Allenoxid-Synthase(n), Hydroperoxid-Lyase(n) oder Fettsäure-Elongase(n) oder deren Kombinationen verwendet. Besonders vorteilhafte Nukleinsäuresequenzen sind Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe der Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase, ω -3-Desaturase, Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -9-Desaturase-, Δ -12-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- und/oder Δ -9-Elongase.
- Dabei können die vorgenannten Nukleinsäuren bzw. Gene in Kombination mit anderen Elongasen und Desaturasen in Expressionskassetten, wie den vorgenannten, kloniert werden und zur Transformation von Pflanzen Mithilfe von Agrobakterium eingesetzt werden.
- Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird. Die Expressionskassetten können prinzipiell direkt zum Einbringen in die Pflanze verwendet werden oder aber in einen Vektoren eingebracht werden.
- Diese vorteilhaften Vektoren, vorzugsweise Expressionsvektoren, enthalten die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen oder Δ -4-Desaturasen codieren, oder ein Nukleinsäurekonstrukt, die die verwendeten Nukleinsäure allein oder in Kombination mit weiteren Biosynthesegenen des Fettsäure-

oder Lipidstoffwechsels wie den Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen, ω -3-Desaturasen, Δ -4-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -9-Desaturasen, Δ -12-Desaturasen, ω 3-Desaturasen, Δ -5-Elongasen, Δ -6-Elongasen und/oder Δ -9-Elongasen. Wie hier verwendet, betrifft der Begriff "Vektor" ein Nukleinsäuremolekül, das eine andere Nukleinsäure transportieren kann, an welche es gebunden ist. Ein Vektortyp ist ein "Plasmid", was für eine zirkuläre doppelsträngige DNA-Schleife steht, in die zusätzlichen DNA-Segmente ligiert werden können. Ein weiterer Vektortyp ist ein viraler Vektor, wobei zusätzliche DNA-Segmente in das virale Genom ligiert werden können. Bestimmte Vektoren können in einer Wirtszelle, in die sie eingebracht worden sind, autonom replizieren (z.B. Bakterienvektoren mit bakteriellem Replikationsursprung). Andere Vektoren werden vorteilhaft beim Einbringen in die Wirtszelle in das Genom einer Wirtszelle integriert und dadurch zusammen mit dem Wirtsgenom repliziert. Zudem können bestimmte Vektoren die Expression von Genen, mit denen sie funktionsfähig verbunden sind, steuern. Diese Vektoren werden hier als "Expressionsvektoren" bezeichnet. Gewöhnlich haben Expressionsvektoren, die für DNA-Rekombinationstechniken geeignet sind, die Form von Plasmiden. In der vorliegenden Beschreibung können "Plasmid" und "Vektor" austauschbar verwendet werden, da das Plasmid die am häufigsten verwendete Vektorform ist. Die Erfindung soll jedoch diese anderen Expressionsvektorformen, wie virale Vektoren, die ähnliche Funktionen ausüben, umfassen. Ferner soll der Begriff Vektor auch andere Vektoren, die dem Fachmann bekannt sind, wie Phagen, Viren, wie SV40, CMV, TMV, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Phagemide, Cosmide, lineare oder zirkuläre DNA, umfassen.

Die im Verfahren vorteilhaft verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren umfassen die die unten beschriebenen Nukleinsäuren oder das oben beschriebene Genkonstrukt in einer Form, die sich zur Expression der verwendeten Nukleinsäuren in einer Wirtszelle eignen, was bedeutet, dass die rekombinanten Expressionsvektoren eine oder mehrere Regulationssequenzen, ausgewählt auf der Basis der zur Expression zu verwendenden Wirtszellen, die mit der zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz funktionsfähig verbunden ist, umfasst. In einem rekombinanten Expressionsvektor bedeutet "funktionsfähig verbunden", dass die Nukleotidsequenz von Interesse derart an die Regulationssequenz(en) gebunden ist, dass die Expression der Nukleotidsequenz möglich ist und sie aneinander gebunden sind, so dass beide Sequenzen die vorhergesagte, der Sequenz zugeschriebene Funktion erfüllen (z.B. in einem In-vitro-Transkriptions-/Translationssystem oder in einer Wirtszelle, wenn der Vektor in die Wirtszelle eingebracht wird). Der Begriff "Regulationssequenz" soll Promotoren, Enhancer und andere Expressionskontrollelemente (z.B. Polyadenylierungssignale) umfassen. Diese Regulationssequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel: Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990), oder siehe: Gruber und Crosby, in: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, CRC Press, Boca Raton, Florida, Hrsgb.: Glick und Thompson, Kapitel 7, 89-108, einschließlich der Literaturstellen darin. Regulationssequenzen umfassen solche, welche die konstitutive Expression einer Nukleotidsequenz in vielen Wirtszelltypen steuern, und solche, welche die direkte Expression der Nukleotidsequenz nur in

bestimmten Wirtszellen unter bestimmten Bedingungen steuern. Der Fachmann weiß, dass die Gestaltung des Expressionsvektors von Faktoren, wie der Auswahl der zu transformierenden Wirtszelle, dem Ausmaß der Expression des gewünschten Proteins usw., abhängen kann.

- 5 Die verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren können zur Expression von ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen in prokaryotischen oder eukaryotischen Zellen gestaltet sein. Dies ist vorteilhaft, da häufig Zwischenschritte der Vektorkonstruktion der Einfachheit halber in Mikroorganismen durchgeführt werden.
- 10 Beispielsweise können die ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -4-Desaturase-Gene in bakteriellen Zellen, Insektenzellen (unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren), Hefe- und anderen Pilzzellen (siehe Romanos, M.A., et al. (1992) "Foreign gene expression in yeast: a review", *Yeast* 8:423-488; van den Hondel, C.A.M.J.J., et al. (1991) "Heterologous gene expression in filamentous fungi", in: *More Gene Manipulations in Fungi*, J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., S. 396-428; Academic Press: San Diego; und van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi", in: *Applied Molecular Genetics of Fungi*, Peberdy, J.F., et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge), Algen (Falcitore et al., 1999, *Marine Biotechnology* 1, 3:239-251), Ciliaten der Typen: Holotrichia, Peritrichia, Spirotrichia, Suctorina, Tetrahymena, Paramecium, Colpidium, Glaucoma, Platyophrya, Potomacus, Desaturase-udocohnilembus, Euplotes, Engelmanniella und Stylonychia, insbesondere der Gattung Stylonychia lemnae, mit Vektoren nach einem Transformationsverfahren, wie beschrieben in WO 98/01572, sowie bevorzugt in Zellen vielzelliger Pflanzen (siehe Schmidt, R. und Willmitzer, L. (1988) "High efficiency Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants" *Plant Cell Rep.*:583-586; *Plant Molecular Biology and Biotechnology*, C Press, Boca Raton, Florida, Kapitel 6/7, S.71-119 (1993); F.F. White, B. Jenes et al., *Techniques for Gene Transfer*, in: *Transgenic Plants*, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-43; Potrykus, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42 (1991), 205-225 (und darin zitierte Literaturstellen)) exprimiert werden. Geeignete Wirtszellen werden ferner erörtert in Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). Der rekombinante Expressionsvektor kann alternativ, zum Beispiel unter Verwendung von T7-Promotor-Regulationssequenzen und T7-Polymerase, in vitro transkribiert und translatiert werden.
- 35

- 40 Die Expression von Proteinen in Prokaryoten erfolgt meist mit Vektoren, die konstitutive oder induzierbare Promotoren enthalten, welche die Expression von Fusions- oder nicht-Fusionsproteinen steuern. Typische Fusions-Expressionsvektoren sind u.a. pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D.B., und Johnson, K.S. (1988) *Gene* 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) und pRIT5 (Pharmacia, Piscataway,

NJ), bei denen Glutathion-S-Transferase (GST), Maltose E-bindendes Protein bzw. Protein A an das rekombinante Zielprotein fusioniert wird.

- Beispiele für geeignete induzierbare nicht-Fusions-E. coli-Expressionsvektoren sind u.a. pTrc (Amann et al. (1988) Gene 69:301-315) und pET 11d (Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 60-89). Die Zielgenexpression vom pTrc-Vektor beruht auf der Transkription durch Wirts-RNA-Polymerase von einem Hybrid-trp-lac-Fusionspromotor. Die Zielgenexpression aus dem pET 11d-Vektor beruht auf der Transkription von einem T7-gn10-lac-Fusions-Promotor, die von einer coexprimierten viralen RNA-Polymerase (T7 gn1) vermittelt wird. Diese virale Polymerase wird von den Wirtsstämmen BL21 (DE3) oder HMS174 (DE3) von einem residenten λ -Prophagen bereitgestellt, der ein T7 gn1-Gen unter der Transkriptionskontrolle des lacUV 5-Promotors birgt.

- Andere in prokaryotischen Organismen geeignete Vektoren sind dem Fachmann bekannt, diese Vektoren sind beispielsweise in E. coli pLG338, pACYC184, die pBR-Reihe, wie pBR322, die pUC-Reihe, wie pUC18 oder pUC19, die M113mp-Reihe, pKC30, pRep4, pHS1, pHS2, pPLc236, pMBL24, pLG200, pUR290, pIN-III113-B1, λ gt11 or pBdCl, in Streptomyces pIJ101, pIJ364, pIJ702 oder pIJ361, in Bacillus pUB110, pC194 oder pBD214, in Corynebacterium pSA77 oder pAJ667.
- Bei einer weiteren Ausführungsform ist der Expressionsvektor ein Hefe-Expressionsvektor. Beispiele für Vektoren zur Expression in der Hefe *S. cerevisiae* umfassen pYeDesaturasec1 (Baldari et al. (1987) Embo J. 6:229-234), pMFa (Kurjan und Herskowitz (1982) Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) Gene 54:113-123) sowie pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA). Vektoren und Verfahren zur Konstruktion von Vektoren, die sich zur Verwendung in anderen Pilzen, wie den filamentösen Pilzen, eignen, umfassen diejenigen, die eingehend beschrieben sind in: van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of fungi, J.F. Peberdy et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge, oder in: More Gene Manipulations in Fungi [J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., S. 396-428: Academic Press: San Diego]. Weitere geeignete Hefevektoren sind beispielsweise pAG-1, YEpl6, YEpl13 oder pEMBLYe23.

- Alternativ können die ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen in Insektenzellen unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren exprimiert werden. Baculovirus-Vektoren, die zur Expression von Proteinen in gezüchteten Insektenzellen (z.B. Sf9-Zellen) verfügbar sind, umfassen die pAc-Reihe (Smith et al. (1983) Mol. Cell Biol. 3:2156-2165) und die pVL-Reihe (Lucklow und Summers (1989) Virology 170:31-39).

- Die oben genannten Vektoren bieten nur einen kleinen Überblick über mögliche geeignete Vektoren. Weitere Plasmide sind dem Fachmann bekannt und sind zum Beispiel

beschrieben in: Cloning Vectors (Hrsgb. Pouwels, P.H., et al., Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018). Weitere geeignete Expressionssysteme für prokaryotische und eukaryotische Zellen siehe in den Kapiteln 16 und 17 von Sambrook, J., Fritsch, E.F., und Maniatis, T., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.

Bei einer weiteren Ausführungsform des Verfahrens können die ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen in einzelligen Pflanzenzellen (wie Algen), siehe Falciatore et al., 1999, Marine Biotechnology 1 (3):239-251 und darin zitierte Literaturangaben, und Pflanzenzellen aus höheren Pflanzen (z.B. Spermatophyten, wie Feldfrüchten) exprimiert werden. Beispiele für Pflanzen-Expressionsvektoren umfassen solche, die eingehend beschrieben sind in: Becker, D., Kemper, E., Schell, J., und Masterson, R. (1992) "New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border", Plant Mol. Biol. 20:1195-1197; und Bevan, M.W. (1984) "Binary Agrobacterium vectors for plant transformation", Nucl. Acids Res. 12:8711-8721; Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38.

Eine Pflanzen-Expressionskassette enthält vorzugsweise Regulationssequenzen, welche die Genexpression in Pflanzenzellen steuern können und funktionsfähig verbunden sind, so dass jede Sequenz ihre Funktion, wie Termination der Transkription, erfüllen kann, beispielsweise Polyadenylierungssignale. Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind diejenigen, die aus Agrobacterium tumefaciens-T-DNA stammen; wie das als Octopinsynthase bekannte Gen 3 des Ti-Plasmids pTiACH5 (Gielen et al., EMBO J. 3 (1984) 835ff.) oder funktionelle Äquivalente davon, aber auch alle anderen in Pflanzen funktionell aktiven Terminatoren sind geeignet.

Da die Pflanzengenexpression sehr oft nicht auf Transkriptionsebenen beschränkt ist, enthält eine Pflanzen-Expressionskassette vorzugsweise andere funktionsfähig verbunden Sequenzen, wie Translationsenhancer, beispielsweise die Overdrive-Sequenz, welche die 5'-untranslatierte Leader-Sequenz aus Tabakmosaikvirus, die das Protein/RNA-Verhältnis erhöht, enthält (Gallie et al., 1987, Nucl. Acids Research 15:8693-8711).

Die Pflanzengenexpression muss wie oben beschrieben funktionsfähig mit einem geeigneten Promotor verbunden sein, der die Genexpression auf rechtzeitige, zell- oder gewebespezifische Weise durchführt. Nutzbare Promotoren sind konstitutive Promotoren (Benfey et al., EMBO J. 8 (1989) 2195-2202), wie diejenigen, die von Pflanzenviren stammen, wie 35S CAMV (Franck et al., Cell 21 (1980) 285-294), 19S CaMV (siehe auch US 5352605 und WO 84/02913) oder Pflanzenpromotoren, wie der in US 4,962,028 beschriebene der kleinen Untereinheit der Rubisco.

Andere bevorzugte Sequenzen für die Verwendung zur funktionsfähigen Verbindung in Pflanzengenexpressions-Kassetten sind Targeting-Sequenzen, die zur Steuerung des

Genproduktes in sein entsprechendes Zellkompartiment notwendig sind (siehe eine Übersicht in Kermode, Crit. Rev. Plant Sci. 15, 4 (1996) 285-423 und darin zitierte Literaturstellen), beispielsweise in die Vakuole, den Zellkern, alle Arten von Plastiden, wie Amyloplasten, Chloroplasten, Chromoplasten, den extrazellulären Raum, die Mitochondrien, das Endoplasmatische Retikulum, Ölkörper, Peroxisomen und andere Kompartimente von Pflanzenzellen.

Die Pflanzengenexpression lässt sich auch wie oben beschrieben über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäure-induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

Auch Promotoren, die auf biotische oder abiotische Stressbedingungen reagieren, sind geeignete Promotoren, beispielsweise der pathogeninduzierte PRP1-Gen-Promotor (Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993) 361-366), der hitzeinduzierbare hsp80-Promotor aus Tomate (US 5,187,267), der kälteinduzierbare Alpha-Amylase-Promotor aus Kartoffel (WO 96/12814) oder der durch Wunden induzierbare pinII-Promotor (EP-A-0 375 091).

Es sind insbesondere solche Promotoren bevorzugt, welche die Genexpression in Geweben und Organen herbeiführen, in denen die Fettsäure-, Lipid- und Ölsynthese stattfindet, in Samenzellen, wie den Zellen des Endosperms und des sich entwickelnden Embryos. Geeignete Promotoren sind der Napingen-Promotor aus Raps (US 5,608,152), der USP-Promotor aus Vicia faba (Baeumlein et al., Mol Gen Genet, 1991, 225 (3):459-67), der Oleosin-Promotor aus Arabidopsis (WO 98/45461), der Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris (US 5,504,200), der Bce4-Promotor aus Brassica (WO 91/13980) oder der Legumin-B4-Promotor (LeB4; Baeumlein et al., 1992, Plant Journal, 2 (2):233-9) sowie Promotoren, welche die samenspezifische Expression in Monokotyledonen-Pflanzen, wie Mais, Gerste, Weizen, Roggen, Reis usw. herbeiführen. Geeignete beachtenswerte Promotoren sind der lpt2- oder lpt1-Gen-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230) oder die in WO 99/16890 beschriebenen (Promotoren aus dem Gersten-Hordein-Gen, dem Reis-Glutelin-Gen, dem Reis-Oryzin-Gen, dem Reis-Prolamin-Gen, dem Weizen-Gliadin-Gen, Weizen-Glutelin-Gen, dem Mais-Zein-Gen, dem Hafer-Glutelin-Gen, dem Sorghum-Kasirin-Gen, dem Roggen-Secalin-Gen).

Insbesondere kann die multiparallele Expression der im Verfahren verwendeten ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen gewünscht sein. Die Einführung solcher Expressionskassetten kann über eine simultane Transformation mehrerer einzelner Expressionskonstrukte erfolgen oder bevorzugt durch Kombination mehrerer Expressionskassetten auf einem Konstrukt. Auch können mehrere Vektoren

mit jeweils mehreren Expressionskassetten transformiert und auf die Wirtszelle übertragen werden.

Ebenfalls besonders geeignet sind Promotoren, welche die plastidenspezifische Expression herbeiführen, da Plastiden das Kompartiment sind, in dem die Vorläufer sowie einige Endprodukte der Lipidbiosynthese synthetisiert werden. Geeignete Promotoren, wie der virale RNA-Polymerase-Promotor, sind beschrieben in WO 95/16783 und WO 97/06250, und der clpP-Promotor aus Arabidopsis, beschrieben in WO 99/46394.

Vektor-DNA lässt sich in prokaryotische oder eukaryotische Zellen über herkömmliche Transformations- oder Transfektionstechniken einbringen. Die Begriffe "Transformation" und "Transfektion", Konjugation und Transduktion, wie hier verwendet, sollen eine Vielzahl von im Stand der Technik bekannten Verfahren zum Einbringen fremder Nukleinsäure (z.B. DNA) in eine Wirtszelle, einschließlich Calciumphosphat- oder Calciumchlorid-Coprazipitation, DEAE-Dextran-vermittelte Transfektion, Lipofektion, natürliche Kompetenz, chemisch vermittelter Transfer, Elektroporation oder Teilchenbeschuss, umfassen. Geeignete Verfahren zur Transformation oder Transfektion von Wirtszellen, einschließlich Pflanzenzellen, lassen sich finden in Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual., 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) und anderen Labor-Handbüchern, wie Methods in Molecular Biology, 1995, Bd. 44, Agrobacterium protocols, Hrsgb: Gartland und Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey.

Wirtszellen, die im Prinzip zum Aufnehmen der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, des erfindungsgemäßen Genproduktes oder des erfindungsgemäßen Vektors geeignet sind, sind alle prokaryotischen oder eukaryotischen Organismen. Die vorteilhafterweise verwendeten Wirtsorganismen sind Mikroorganismen, wie Pilze oder Hefen oder Pflanzenzellen vorzugsweise Pflanzen oder Teile davon. Pilze, Hefen oder Pflanzen werden vorzugsweise verwendet, besonders bevorzugt Pflanzen, ganz besonders bevorzugt Pflanzen, wie Ölfuchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten, wie Raps, Nachtkerze, Hanf, Diestel, Erdnuss, Canola, Lein, Soja, Saflor, Sonnenblume, Borretsch, oder Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa, Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölplume, Kokosnuss) sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte. Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfuchtpflanzen, wie Soja, Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Hanf, Nachtkerze, Sonnenblume, Saflor, Bäume (Ölplume, Kokosnuss).

Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind wie oben beschrieben isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongase-Aktivität codieren, wobei die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten Elongase C_{16} - und C_{18} - Fettsäuren mit einer Doppelbindung und vorteilhaft mehrfach ungesättigte C_{18} -Fettsäuren mit einer

$\Delta 6$ -Doppelbindung und mehrfach ungesättigte C_{20} -Fettsäuren mit einer $\Delta 5$ -Doppelbindung umgesetzt. C_{22} -Fettsäuren werden nicht elongiert.

Vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:

- 5 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Sequenz,
- 10 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 15 c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 aufweisen und eine
- 20 $\Delta 5$ -Elongaseaktivität aufweisen.

Weitere vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:

- 25 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69 oder in SEQ ID NO: 81 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70 oder SEQ ID NO: 82 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 30 c) Derivate der in SEQ ID NO: 69 oder in SEQ ID NO: 81 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70 oder SEQ ID NO: 82 codieren und eine $\Delta 6$ -Elongaseaktivität aufweisen.
- 35 Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit $\omega 3$ -Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Sequenz,

b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder

- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 aufweisen und eine ω -3-Desaturaseaktivität aufweisen.

Die oben genannte erfindungsgemäßen Nukleinsäuren stammen von Organismen, wie nicht-humanen Tieren, Ciliaten, Pilzen, Pflanzen wie Algen oder Dinoflagellaten, die PUFAs synthetisieren können.

- 10 Vorteilhaft stammen die isolierten oben genannten Nukleinsäuresequenzen aus der Ordnung Salmoniformes, den Diatomeengattungen Thallasiosira oder Crythecodinium oder aus der Familie der Prasinophyceae oder Pythiaceae stammt.

15 Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind wie oben beschrieben isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit ω -3-Desaturase-Aktivität codieren, wobei die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten ω -3-Desaturasen C₁₈-, C₂₀- und C₂₂-Fettsäuren mit zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen und vorteilhaft mehrfach ungesättigte C₁₈-Fettsäuren mit zwei oder drei Doppelbindungen und mehrfach ungesättigte C₂₀-Fettsäuren mit zwei, drei oder vier Doppelbindungen umsetzt. Auch C₂₂-Fettsäuren mit vier oder fünf Doppelbindungen werden desaturiert.

- 20 Der Begriff "Nukleinsäure(molekül)", wie hier verwendet, umfasst in einer vorteilhaften Ausführungsform zudem die am 3'- und am 5'-Ende des kodierenden Genbereichs gelegene untranslatierte Sequenz: mindestens 500, bevorzugt 200, besonders bevorzugt 100 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes des kodierenden Bereichs und mindestens 100, bevorzugt 50, besonders bevorzugt 20 Nukleotide der
- 25 Sequenz stromabwärts des 3'-Endes des kodierenden Genbereichs. Ein "isoliertes" Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure vorliegen. Eine "isolierte" Nukleinsäure hat vorzugsweise keine Sequenzen, welche die Nukleinsäure in der genomischen DNA des Organismus, aus dem die Nukleinsäure stammt, natürlicherweise flankieren (z.B.
- 30 Sequenzen, die sich an den 5'- und 3'-Enden der Nukleinsäure befinden). Bei verschiedenen Ausführungsformen kann das isolierte ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturasemolekül zum Beispiel weniger als etwa 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb oder 0,1 kb an Nukleotidsequenzen enthalten, die natürlicherweise das Nukleinsäuremolekül in der genomischen DNA der Zelle, aus der die Nukleinsäure stammt
- 35 flankieren.

- Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuremoleküle, z.B. ein Nukleinsäuremolekül mit einer Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15,
- 40 SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25,

SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35,
SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45,
SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59,
SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69,
5 SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79,
SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 oder eines Teils
davon, kann unter Verwendung molekularbiologischer Standardtechniken und der hier
bereitgestellten Sequenzinformation isoliert werden. Auch kann Mithilfe von Vergleichs-
algorithmen beispielsweise eine homologe Sequenz oder homologe, konservierte
10 Sequenzbereiche auf DNA oder Aminosäureebene identifiziert werden. Diese können
als Hybridisierungs-sonde sowie Standard-Hybridisierungstechniken (wie z.B. beschrie-
ben in Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. Aufl., Cold Spring
Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY,
1989) zur Isolierung weiterer im Verfahren nützlicher Nukleinsäuresequenzen ver-
15 wendet werden. Überdies lässt sich ein Nukleinsäuremolekül, umfassend eine voll-
ständige Sequenz der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7,
SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17,
SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27,
SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37,
20 SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47,
SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61,
SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71,
SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81,
SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 oder einen Teil davon, durch
25 Polymerasekettenreaktion isolieren, wobei Oligonukleotidprimer, die auf der Basis
dieser Sequenz oder von Teilen davon, verwendet werden (z.B. kann ein Nuklein-
säuremolekül, umfassend die vollständigen Sequenz oder einen Teil davon, durch
Polymerasekettenreaktion unter Verwendung von Oligonukleotidprimern isoliert
werden, die auf der Basis dieser gleichen Sequenz erstellt worden sind). Zum Beispiel
30 lässt sich mRNA aus Zellen isolieren (z.B. durch das Guanidiniumthiocyanat-Extrak-
tionsverfahren von Chirgwin et al. (1979) Biochemistry 18:5294-5299) und cDNA
mittels Reverser Transkriptase (z.B. Moloney-MLV-Reverse-Transkriptase, erhältlich
von Gibco/BRL, Bethesda, MD, oder AMV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von
Seikagaku America, Inc., St. Petersburg, FL) herstellen. Synthetische Oligonukleotid-
35 primer zur Amplifizierung mittels Polymerasekettenreaktion lassen sich auf der
Basis einer der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7,
SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17,
SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27,
SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37,
40 SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47,
SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61,
SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71,
SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81,
SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 gezeigten Sequenzen oder
45 Mithilfe der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8,

5 SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18,
SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28,
SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38,
SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48,
10 SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62,
SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72,
SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82,
SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86 oder SEQ ID NO: 88 dargestellten Aminosäure-
sequenzen erstellen. Eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kann unter Verwendung
15 von cDNA oder alternativ von genomischer DNA als Matrize und geeigneten Oligo-
nukleotidprimern gemäß Standard-PCR-Amplifikationstechniken amplifiziert werden.
Die so amplifizierte Nukleinsäure kann in einen geeigneten Vektor kloniert werden
und mittels DNA-Sequenzanalyse charakterisiert werden. Oligonukleotide, die einer
Desaturase-Nukleotidsequenz entsprechen, können durch Standard-Synthese-
20 verfahren, beispielsweise mit einem automatischen DNA-Synthesegerät, hergestellt
werden.

Homologe der verwendeten ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-
Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-
Nukleinsäuresequenzen mit der Sequenz SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3,
20 SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13,
SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23,
SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33,
SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43,
SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53,
25 SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67,
SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77,
SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87
bedeutet beispielsweise allelische Varianten mit mindestens etwa 50 oder 60 %,
vorzugsweise mindestens etwa 60 oder 70 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70
30 oder 80 %, 90 % oder 95 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder
mehr Identität bzw. Homologie zu einer in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5,
SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15,
SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25,
35 SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35,
SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45,
SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59,
SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69,
SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79,
40 SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 gezeigten
Nukleotidsequenzen oder ihren Homologen, Derivaten oder Analoga oder Teilen
davon. Weiterhin sind isolierte Nukleinsäuremoleküle einer Nukleotidsequenz, die an
eine der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9,
SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19,

SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29,
SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39,
SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49,
SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63,
5 SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73,
SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83,
SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 gezeigten Nukleotidsequenzen oder einen Teil
davon hybridisieren, z.B. unter stringenten Bedingungen hybridisiert. Allelische
Varianten umfassen insbesondere funktionelle Varianten, die sich durch Deletion,
10 Insertion oder Substitution von Nukleotiden aus/in der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3,
SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13,
SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23,
SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33,
SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43,
15 SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53,
SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67,
SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77,
SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87
dargestellten Sequenz erhalten lassen, wobei aber die Absicht ist, dass die Enzym-
20 aktivität der davon herrührenden synthetisierten Proteine für die Insertion eines oder
mehrerer Gene vorteilhafterweise beibehalten wird. Proteine, die noch die enzyma-
tische Aktivität der ω -3-Desaturase, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase,
 Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -4-Desaturase besitzen, das heißt
deren Aktivität im wesentlichen nicht reduziert ist, bedeutet Proteine mit mindestens
25 10 %, vorzugsweise 20 %, besonders bevorzugt 30 %, ganz besonders bevorzugt
40 % der ursprünglichen Enzymaktivität, verglichen mit dem durch SEQ ID NO: 1,
SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11,
SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21,
SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31,
30 SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41,
SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51,
SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65,
SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75,
SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85
35 oder SEQ ID NO: 87 kodierten Protein. Die Homologie wurde über den gesamten
Aminosäure- bzw. Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für das Vergleichen
verschiedener Sequenzen stehen dem Fachmann eine Reihe von Programmen, die
auf verschiedenen Algorithmen beruhen zur Verfügung. Dabei liefern die Algorithmen
von Needleman und Wunsch oder Smith und Waterman besonders zuverlässige
40 Ergebnisse. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet
(J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder
die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453
(1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))], die im GCG
Software-Packet [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin,
45 USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in Prozent angegebenen Sequenzhomo-

logiewerte wurden mit dem Programm GAP über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Die falls nicht anders angegeben als Standard-einstellungen immer für Sequenzvergleiche verwendet wurden.

5 Homologen der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO: 7,
SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17,
SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27,
SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37,
SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47,
10 SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61,
SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71,
SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81,
SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 bedeuten beispielsweise auch
bakterielle, Pilz- und Pflanzenhomologen, verkürzte Sequenzen, einzelsträngige DNA
oder RNA der kodierenden und nicht-kodierenden DNA-Sequenz.

15 Homologen der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO: 7,
SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17,
SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27,
SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37,
20 SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47,
SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61,
SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71,
SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81,
SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 bedeutet auch Derivate, wie
25 beispielsweise Promotorvarianten. Die Promotoren stromaufwärts der angegebenen
Nukleotidsequenzen können durch einen oder mehrere Nukleotidaustausche, durch
Insertion(en) und/oder Deletion(en) modifiziert werden, ohne dass jedoch die Funktio-
nalität oder Aktivität der Promotoren gestört wird. Es ist weiterhin möglich, dass die
Aktivität der Promotoren durch Modifikation ihrer Sequenz erhöht ist oder dass sie
30 vollständig durch aktivere Promotoren, sogar aus heterologen Organismen, ersetzt
werden.

Die vorgenannten Nukleinsäuren und Proteinmoleküle mit ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elon-
gase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elon-
gase- und/oder Δ -4-Desaturase-Aktivität, die am Stoffwechsel von Lipiden und Fett-
35 säuren, PUFA-Cofaktoren und Enzymen oder am Transport lipophiler Verbindungen
über Membranen beteiligt sind, werden im erfindungsgemäßen Verfahren zur Modu-
lation der Produktion von PUFAs in transgenen Organismen vorteilhaft in Pflanzen,
wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baum-
wolle, Linum Arten wie Öl- oder Faserlein, Brassica-Arten, wie Raps, Canola und
40 Rübsen, Pfeffer, Sonnenblume, Borretsch, Nachtkerze und Tagetes, Solanacaen-
Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Maniok,
Alfalfa, Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölpalme, Kokos-

nuss) und ausdauernden Gräsern und Futterfeldfrüchten, entweder direkt (z.B. wenn die Überexpression oder Optimierung eines Fettsäurebiosynthese-Proteins einen direkten Einfluss auf die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der Fettsäure aus modifizierten Organismen hat) verwendet und/oder können eine indirekt
5 Auswirkung haben, die dennoch zu einer Steigerung der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der PUFAs oder einer Abnahme unerwünschter Verbindungen führt (z.B. wenn die Modulation des Stoffwechsels von Lipiden und Fettsäuren, Cofaktoren und Enzymen zu Veränderungen der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion oder der Zusammensetzung der gewünschten
10 Verbindungen innerhalb der Zellen führt, was wiederum die Produktion einer oder mehrerer Fettsäuren beeinflussen kann).

Die Kombination verschiedener Vorläufermoleküle und Biosyntheseenzyme führt zur Herstellung verschiedener Fettsäuremoleküle, was eine entscheidende Auswirkung auf die Zusammensetzung der Lipide hat. Da mehrfach ungesättigte Fettsäuren (= PUFAs) nicht nur einfach in Triacylglycerin sondern auch in Membranlipide eingebaut werden.

15 Besonders zur Herstellung von PUFAs, beispielsweise Stearidonsäure, Eicosa-pentaensäure und Docosahexaensäure eignen sich Boraginaceen, Primulaceen, oder Linaceen. Besonders vorteilhaft eignet sich Lein (*Linum usitatissimum*) zur Herstellung von PUFAs mit dem erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen vorteilhaft, wie
20 beschrieben, in Kombination mit weiteren Desaturasen und Elongasen.

Die Lipidsynthese lässt sich in zwei Abschnitte unterteilen: die Synthese von Fettsäuren und ihre Bindung an sn-Glycerin-3-Phosphat sowie die Addition oder Modifikation einer polaren Kopfgruppe. Übliche Lipide, die in Membranen verwendet werden, umfassen Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide und Phosphoglyceride.
25 Die Fettsäuresynthese beginnt mit der Umwandlung von Acetyl-CoA in Malonyl-CoA durch die Acetyl-CoA-Carboxylase oder in Acetyl-ACP durch die Acetyltransacylase. Nach einer Kondensationsreaktion bilden diese beiden Produktmoleküle zusammen Acetoacetyl-ACP, das über eine Reihe von Kondensations-, Reduktions- und Dehydrtisierungsreaktionen umgewandelt wird, so dass ein gesättigtes Fettsäuremolekül mit der gewünschten Kettenlänge erhalten wird. Die Produktion der ungesättigten Fettsäuren aus diesen Molekülen wird durch spezifische Desaturasen katalysiert, und zwar
30 entweder aerob mittels molekularem Sauerstoff oder anaerob (bezüglich der Fettsäuresynthese in Mikroorganismen siehe F.C. Neidhardt et al. (1996) *E. coli* und *Salmonella*. ASM Press: Washington, D.C., S. 612-636 und darin enthaltene Literaturstellen; Lengeler et al. (Hrsgb.) (1999) *Biology of Prokaryotes*. Thieme: Stuttgart, New York, und die enthaltene Literaturstellen, sowie Magnuson, K., et al. (1993) *Microbiological Reviews* 57:522-542 und die enthaltenen Literaturstellen). Die so hergestellten an Phospholipide gebundenen Fettsäuren müssen anschließend wieder für die weitere
35 Elongationen aus den Phospholipiden in den FettsäureCoA-Ester-Pool überführt werden. Dies ermöglichen Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen. Weiterhin
40 können diese Enzyme die elongierten Fettsäuren wieder von den CoA-Estern auf die

Phospholipide übertragen. Diese Reaktionsabfolge kann gegebenenfalls mehrfach durchlaufen werden.

Vorläufer für die PUFA-Biosynthese sind beispielsweise Ölsäure, Linol- und Linolensäure. Diese C₁₈-Kohlenstoff-Fettsäuren müssen auf C₂₀ und C₂₂ verlängert werden, damit Fettsäuren vom Eicosa- und Docosa-Kettentyp erhalten werden. Mithilfe der im Verfahren verwendeten Desaturasen wie der ω 3-, Δ -4-, Δ -5-, Δ -6- und Δ -8-Desaturasen und/oder der Δ -5-, Δ -6-, Δ -9-Elongasen können Arachidonsäure, Eicosa-pentaensäure, Docosapentaensäure oder Docosahexaensäure vorteilhaft Eicosa-pentaensäure und/oder Docosahexaensäure hergestellt werden und anschließend für verschiedene Zwecke bei Nahrungsmittel-, Futter-, Kosmetik- oder pharmazeutischen Anwendungen verwendet werden. Mit den genannten Enzymen können C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuren mit mindestens zwei vorteilhaft mindestens drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise C₂₀- oder C₂₂-Fettsäuren mit vorteilhaft vier, fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäuremolekül hergestellt werden. Die Desaturierung kann vor oder nach Elongation der entsprechenden Fettsäure erfolgen. Daher führen die Produkte der Desaturaseaktivitäten und der möglichen weiteren Desaturierung und Elongation zu bevorzugten PUFAs mit höherem Desaturierungsgrad, einschließlich einer weiteren Elongation von C₂₀ zu C₂₂-Fettsäuren, zu Fettsäuren wie γ -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure, Arachidonsäure, Stearidonsäure, Eicosatetraensäure oder Eicosapentaensäure. Substrate der verwendeten Desaturasen und Elongasen im erfindungsgemäßen Verfahren sind C₁₆-, C₁₈- oder C₂₀-Fettsäuren wie zum Beispiel Linolsäure, γ -Linolensäure, α -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure, Eicosatetraensäure oder Stearidonsäure. Bevorzugte Substrate sind Linolsäure, γ -Linolensäure und/oder α -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure bzw. Arachidonsäure, Eicosatetraensäure oder Eicosapentaensäure. Die synthetisierten C₂₀- oder C₂₂-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen in der Fettsäure fallen im erfindungsgemäßen Verfahren in Form der freien Fettsäure oder in Form ihrer Ester beispielsweise in Form ihrer Glyceride an.

Unter dem Begriff "Glycerid" wird ein mit ein, zwei oder drei Carbonsäureresten verestertes Glycerin verstanden (Mono-, Di- oder Triglycerid). Unter "Glycerid" wird auch ein Gemisch an verschiedenen Glyceriden verstanden. Das Glycerid oder das Glyceridgemisch kann weitere Zusätze, z.B. freie Fettsäuren, Antioxidantien, Proteine, Kohlenhydrate, Vitamine und/oder andere Substanzen enthalten.

Unter einem "Glycerid" im Sinne des erfindungsgemäßen Verfahrens werden ferner vom Glycerin abgeleitete Derivate verstanden. Dazu zählen neben den oben beschriebenen Fettsäureglyceriden auch Glycerophospholipide und Glyceroglycolipide. Bevorzugt seien hier die Glycerophospholipide wie Lecithin (Phosphatidylcholin), Cardiolipin, Phosphatidylglycerin, Phosphatidylserin und Alkylacylglycerophospholipide beispielhaft genannt.

Ferner müssen Fettsäuren anschließend an verschiedene Modifikationsorte transportiert und in das Triacylglycerin-Speicherlipid eingebaut werden. Ein weiterer wichtiger

Schritt bei der Lipidsynthese ist der Transfer von Fettsäuren auf die polaren Kopfgruppen, beispielsweise durch Glycerin-Fettsäure-Acyltransferase (siehe Frentzen, 1998, Lipid, 100(4-5):161-166).

Veröffentlichungen über die Pflanzen-Fettsäurebiosynthese, Desaturierung, den Lipidstoffwechsel und Membrantransport von fetthaltigen Verbindungen, die Betaoxidation, Fettsäuremodifikation und Cofaktoren, Triacylglycerin-Speicherung und -Assemblierung einschließlich der Literaturstellen darin siehe in den folgenden Artikeln: Kinney, 1997, Genetic Engineering, Hrsgb.: JK Setlow, 19:149-166; Ohlrogge und Browse, 1995, Plant Cell 7:957-970; Shanklin und Cahoon, 1998, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49:611-641; Voelker, 1996, Genetic Engineering, Hrsgb.: JK Setlow, 18:111-13; Gerhardt, 1992, Prog. Lipid R. 31:397-417; Gühnemann-Schäfer & Kindl, 1995, Biochim. Biophys Acta 1256:181-186; Kunau et al., 1995, Prog. Lipid Res. 34:267-342; Stymne et al., 1993, in: Biochemistry and Molecular Biology of Membrane and Storage Lipids of Plants, Hrsgb.: Murata und Somerville, Rockville, American Society of Plant Physiologists, 150-158, Murphy & Ross 1998, Plant Journal. 13(1):1-16.

Die im Verfahren hergestellten PUFAs, umfassen eine Gruppe von Molekülen, die höhere Tiere nicht mehr synthetisieren können und somit aufnehmen müssen oder die höhere Tiere nicht mehr ausreichend selbst herstellen können und somit zusätzlich aufnehmen müssen, obwohl sie leicht von anderen Organismen, wie Bakterien, synthetisiert werden, beispielsweise können Katzen Arachidonsäure nicht mehr synthetisieren.

Unter Phospholipiden im Sinne der Erfindung sind zu verstehen Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerin und/oder Phosphatidylinositol vorteilhafterweise Phosphatidylcholin. Die Begriffe Produktion oder Produktivität sind im Fachgebiet bekannt und beinhalten die Konzentration des Fermentationsproduktes (Verbindungen der Formel I), das in einer bestimmten Zeitspanne und einem bestimmten Fermentationsvolumen gebildet wird (z.B. kg Produkt pro Stunde pro Liter). Der Begriff Effizienz der Produktion umfasst die Zeit, die zur Erzielung einer bestimmten Produktionsmenge nötig ist (z.B. wie lange die Zelle zur Aufrichtung einer bestimmten Durchsatzrate einer Feinchemikalie benötigt). Der Begriff Ausbeute oder Produkt/Kohlenstoff-Ausbeute ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die Effizienz der Umwandlung der Kohlenstoffquelle in das Produkt (d.h. die Feinchemikalie). Dies wird gewöhnlich beispielsweise ausgedrückt als kg Produkt pro kg Kohlenstoffquelle. Durch Erhöhen der Ausbeute oder Produktion der Verbindung wird die Menge der gewonnenen Moleküle oder der geeigneten gewonnenen Moleküle dieser Verbindung in einer bestimmten Kulturmenge über einen festgelegten Zeitraum erhöht. Die Begriffe Biosynthese oder Biosyntheseweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Synthese einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle aus Zwischenverbindungen, beispielsweise in einem Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Die Begriffe Abbau oder Abbauweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Spaltung einer Verbindung, vorzugsweise einer

organischen Verbindung, durch eine Zelle in Abbauprodukte (allgemeiner gesagt, kleinere oder weniger komplexe Moleküle) beispielsweise in einem Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Der Begriff Stoffwechsel ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die Gesamtheit der biochemischen Reaktionen, die in einem Organismus stattfinden. Der Stoffwechsel einer bestimmten Verbindung (z.B. der Stoffwechsel einer Fettsäure) umfasst dann die Gesamtheit der Biosynthese-, Modifikations- und Abbauege dieser Verbindung in der Zelle, die diese Verbindung betreffen.

Bei einer weiteren Ausführungsform kodieren Derivate des erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküls wieder gegeben in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 Proteine mit mindestens 40 %, vorteilhaft etwa 50 oder 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 oder 70 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 oder 80 %, 80 bis 90 %, 90 bis 95 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr Homologie (= Identität) zu einer vollständigen Aminosäuresequenz der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86 oder SEQ ID NO: 88. Die Homologie wurde über den gesamten Aminosäure- bzw. Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))], die im GCG Software-Paket [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in Prozent angegebenen Sequenzhomologiewerte wurden mit dem Programm BestFit über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Die falls nicht anders angegeben als Standardeinstellungen immer für Sequenzvergleiche verwendet wurden.

Die Erfindung umfasst zudem Nukleinsäuremoleküle, die sich von einer der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 gezeigten Nukleotidsequenzen (und Teilen davon) aufgrund des degenerierten genetischen Codes unterscheiden und somit die gleiche ω -3-Desaturase oder Δ -5-Elongase codieren wie diejenige, die von den in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 gezeigten Nukleotidsequenzen kodiert wird.

Zusätzlich zu den in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 gezeigten ω -3-Desaturase, Δ -5-Elongasen oder Δ -6-Elongasen erkennt der Fachmann, dass DNA-Sequenzpolymorphismen, die zu Änderungen in den Aminosäuresequenzen der ω -3-Desaturase, Δ -5-Elongase und/oder Δ -6-Elongase führen, innerhalb einer Population existieren können. Diese genetischen Polymorphismen im ω -3-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -6-Elongase-Gen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund von natürlicher Variation existieren. Diese natürlichen Varianten bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz des ω -3-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -6-Elongase-Gens. Sämtliche und alle dieser Nukleotidvariationen und daraus resultierende Aminosäurepolymorphismen in der ω -3-Desaturase, Δ -5-Elongase und/oder Δ -6-Elongase, die das Ergebnis natürlicher Variation sind und die funktionelle Aktivität von nicht verändern, sollen im Umfang der Erfindung enthalten sein.

Für das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhafte Nukleinsäuremoleküle können auf der Grundlage ihrer Homologie zu den hier offenbarten ω -3-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -6-Elongase-Nukleinsäuren unter Verwendung der Sequenzen oder eines Teils davon als Hybridisierungs-sonde gemäß Standard-Hybridisierungstechniken unter stringenten Hybridisierungsbedingungen isoliert werden. Dabei können beispielsweise isolierte Nukleinsäuremoleküle verwendet werden, die mindestens 15 Nukleotide lang sind und unter stringenten Bedingungen mit dem Nukleinsäuremolekülen, die eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 umfassen, hybridisieren. Es können auch Nukleinsäuren mindestens 25, 50, 100, 250 oder mehr Nukleotide verwendet werden. Der Begriff "hybridisiert unter stringenten Bedingungen", wie hier verwendet, soll Hybridisierungs- und Waschbedingungen beschreiben, unter denen Nukleotidsequenzen, die mindestens 60 % homolog zueinander sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Die Bedingungen sind vorzugsweise derart, dass Sequenzen, die mindestens etwa 65 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 75 % oder stärker zueinander homolog sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Diese stringenten Bedingungen sind dem Fachmann bekannt und lassen sich in Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6., finden. Ein bevorzugtes, nicht einschränkendes Beispiel für stringente Hybridisierungsbedingungen sind Hybridisierungen in 6 x Natriumchlorid/Natriumcitrat (sodium chloride/sodium citrate = SSC) bei etwa 45°C, gefolgt von einem oder mehreren Waschschritten in 0,2 x SSC, 0,1 % SDS bei 50 bis 65°C. Dem Fachmann ist bekannt, dass diese Hybridisierungsbedingungen sich je nach dem Typ der Nukleinsäure und, wenn beispielsweise organische Lösungsmittel vorliegen, hinsichtlich der Temperatur und der Konzentration des Puffers unterscheiden. Die Temperatur unterscheidet sich beispielsweise unter "Standard-Hybridi-

sierungsbedingungen" je nach dem Typ der Nukleinsäure zwischen 42°C und 58°C in wässrigem Puffer mit einer Konzentration von 0,1 bis 5 x SSC (pH 7,2). Falls organisches Lösungsmittel im obengenannten Puffer vorliegt, zum Beispiel 50 % Formamid, ist die Temperatur unter Standardbedingungen etwa 42°C. Vorzugsweise sind die

5 Hybridisierungsbedingungen für DNA:DNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 20°C bis 45°C, vorzugsweise zwischen 30°C und 45°C. Vorzugsweise sind die Hybridisierungsbedingungen für DNA:RNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 30°C bis 55°C, vorzugsweise zwischen 45°C und 55°C. Die vorstehend genannten Hybridisierungstemperaturen sind beispielsweise für eine Nukleinsäure mit etwa 100 bp (= Basen-

10 paare) Länge und einem G + C-Gehalt von 50 % in Abwesenheit von Formamid bestimmt. Der Fachmann weiß, wie die erforderlichen Hybridisierungsbedingungen anhand von Lehrbüchern, wie dem vorstehend erwähnten oder aus den folgenden Lehrbüchern Sambrook et al., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989; Hames und Higgins (Hrsgb.) 1985, "Nucleic Acids Hybridization: A Practical

15 Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford; Brown (Hrsgb.) 1991, "Essential Molecular Biology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford, bestimmt werden können.

Zur Bestimmung der prozentualen Homologie (= Identität) von zwei Aminosäuresequenzen (z.B. einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46,

20 SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86 oder SEQ ID NO: 88) oder von zwei Nukleinsäuren (z.B. SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63,

25 SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87) werden die Sequenzen zum Zweck des optimalen Vergleichs untereinander geschrieben (z.B. können Lücken in die Sequenz eines Proteins oder einer Nukleinsäure eingefügt werden, um ein optimales Alignment mit dem anderen Protein oder der anderen Nukleinsäure zu erzeugen). Die Aminosäurereste oder Nukleotide an den entsprechenden Aminosäurepositionen oder Nukleotidpositionen werden dann verglichen. Wenn eine Position in einer Sequenz durch den gleichen Aminosäurerest oder das gleiche Nukleotid wie die entsprechende Stelle in der anderen Sequenz belegt wird, dann sind die Moleküle an dieser Position homolog (d.h. Aminosäure- oder

30 Nukleinsäure-"Homologie", wie hier verwendet, entspricht Aminosäure- oder Nukleinsäure-"Identität"). Die prozentuale Homologie zwischen den beiden Sequenzen ist eine Funktion der Anzahl an identischen Positionen, die den Sequenzen gemeinsam sind (d.h. % Homologie = Anzahl der identischen Positionen/Gesamtanzahl der Positionen x 100). Die Begriffe Homologie und Identität sind damit als Synonym anzusehen. Die

35 verwendeten Programme bzw. Algorithmen sind oben beschrieben.

40

Ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, das für eine ω -3-Desaturase, Δ -5-Elongase und/oder Δ -6-Elongase kodiert, die zu einer Proteinsequenz der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62,

SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76,
SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86
oder SEQ ID NO: 88 homolog ist, kann durch Einbringen einer oder mehrerer
Nukleotidsubstitutionen, -additionen oder -deletionen in eine Nukleotidsequenz der
5 SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59,
SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69,
SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83,
SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 erzeugt werden, so dass eine oder mehrere
Aminosäuresubstitutionen, -additionen oder -deletionen in das kodierte Protein
10 eingebracht werden. Mutationen können in eine der Sequenzen der SEQ ID NO: 43,
SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61,
SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75,
SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85
oder SEQ ID NO: 87 durch Standardtechniken, wie stellenspezifische Mutagenese
15 und PCR-vermittelte Mutagenese, eingebracht werden. Vorzugsweise werden konser-
vative Aminosäuresubstitutionen an einer oder mehreren der vorhergesagten nicht-
essentiellen Aminosäureresten hergestellt. Bei einer "konservativen Aminosäure-
substitution" wird der Aminosäurerest gegen einen Aminosäurerest mit einer ähnlichen
Seitenkette ausgetauscht. Im Fachgebiet sind Familien von Aminosäureresten mit
20 ähnlichen Seitenketten definiert worden. Diese Familien umfassen Aminosäuren mit
basischen Seitenketten (z.B. Lysin, Arginin, Histidin), sauren Seitenketten (z.B.
Asparaginsäure, Glutaminsäure), ungeladenen polaren Seitenketten (z.B. Glycin,
Asparagin, Glutamin, Serin, Threonin, Tyrosin, Cystein), unpolaren Seitenketten,
(z.B. Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenylalanin, Methionin, Tryptophan),
25 beta-verzweigten Seitenketten (z.B. Threonin, Valin, Isoleucin) und aromatischen
Seitenketten (z.B. Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan, Histidin). Ein vorhergesagter
nicht-essentieller Aminosäurerest in einer Lysophosphatidsäure Acyltransferase,
Glycerin-3-phosphat Acyltransferase, Diacylglycerin Acyltransferase oder Lecithin
Cholesterin Acyltransferase wird somit vorzugsweise durch einen anderen Amino-
30 säurerest aus der gleichen Seitenkettenfamilie ausgetauscht. Alternativ können bei
einer anderen Ausführungsform die Mutationen zufallsgemäß über die gesamte oder
einen Teil der Lysophosphatidsäure Acyltransferase, Glycerin-3-phosphat Acyl-
transferase, Diacylglycerin Acyltransferase oder Lecithin Cholesterin Acyltransferase
kodierenden Sequenz eingebracht werden, z.B. durch Sättigungsmutagenese, und die
35 resultierenden Mutanten können nach der hier beschriebenen Lysophosphatidsäure
Acyltransferase-, Glycerin-3-phosphat Acyltransferase-, Diacylglycerin Acyltransferase-
oder Lecithin Cholesterin Acyltransferase-Aktivität durchmustert werden, um Mutanten
zu identifizieren, die die Lysophosphatidsäure Acyltransferase-, Glycerin-3-phosphat
Acyltransferase-, Diacylglycerin Acyltransferase- oder Lecithin Cholesterin Acyltrans-
40 ferase-Aktivität beibehalten haben. Nach der Mutagenese einer der Sequenzen
SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59,
SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69,
SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83,
SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 kann das kodierte Protein rekombinant exprimiert

werden, und die Aktivität des Proteins kann z.B. unter Verwendung der hier beschriebenen Tests bestimmt werden.

5 Weitere Erfindungsgegenstände sind transgene nicht-humane Organismen, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 oder SEQ ID NO: 87 enthalten oder
10 ein Genkonstrukt oder einen Vektor, die diese erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen enthalten. Vorteilhaft handelt es sich bei dem nicht-humanen Organismus um einen Mikroorganismus, ein nicht-humanes Tier oder eine Pflanze, besonders bevorzugt um eine Pflanze.

15 Diese Erfindung wird durch die nachstehenden Beispiele weiter veranschaulicht, die nicht als beschränkend aufgefasst werden sollten. Der Inhalt sämtlicher in dieser Patentanmeldung zitierten Literaturstellen, Patentanmeldungen, Patente und veröffentlichten Patentanmeldungen ist hier durch Bezugnahme aufgenommen.

Beispiele

Beispiel 1: Allgemeine Klonierungsverfahren:

20 Die Klonierungsverfahren wie z.B. Restriktionsspaltungen, Agarose-Gelelektrophorese, Reinigung von DNA-Fragmenten, Transfer von Nukleinsäuren auf Nitrozellulose und Nylon Membranen, Verknüpfen von DNA-Fragmenten, Transformation von Escherichia coli Zellen, Anzucht von Bakterien und die Sequenzanalyse rekombinanter DNA wurden wie bei Sambrook et al. (1989) (Cold Spring Harbor Laboratory Press: ISBN 0-87969-309-6) beschrieben durchgeführt.

Beispiel 2: Sequenzanalyse rekombinanter DNA:

25 Die Sequenzierung rekombinanter DNA-Moleküle erfolgte mit einem Laserfluoreszenz-DNA-Sequenzierer der Firma ABI nach der Methode von Sanger (Sanger et al. (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA74, 5463-5467). Fragmente resultierend aus einer Polymerase Kettenreaktion wurden zur Vermeidung von Polymerasefehlern in zu exprimierenden Konstrukten sequenziert und überprüft.

30 Beispiel 3: Klonierung von Genen aus Oncorhynchus mykiss

Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen entsprechend der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene wurden zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in der Sequenzdatenbank von Genbank identifiziert.

Gen-Name	Genbank No	Aminosäuren
OmELO2	CA385234, CA364848, CA366480	264
OmELO3	CA360014, CA350786	295

5 Gesamt-RNA von *Oncorhynchus mykiss* wurde mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Qiagen (Valencia, CA, US) isoliert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe von oligo-dT-Cellulose poly-A⁺ RNA (mRNA) isoliert (Sambrook et al., 1989). Die RNA wurde mit dem Reverse Transcription System Kit von Promega revers transkribiert und die synthetisierte cDNA in den lambda ZAP Vektor (lambda ZAP Gold, Stratagene) kloniert. Entsprechend Herstellerangaben wurde die cDNA zur Plasmid-DNA entpackt. Die cDNA-Plasmid-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden verwendet.

Beispiel 4: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen

10 Für die Klonierung der zwei Sequenzen zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Primer	Nukleotidsequenz
5' f* OmELO2	5' aagcttacataatggcttcaacatggcaa
3' r* OmELO2	5' ggatccttatgtcttctgtcttctctgtt
5' f OmELO3	5' aagcttacataatggagacttttaaat
3' r OmELO3	5' ggatccttcagtccccctcactttcc

* f: forward, r: reverse

15 Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase) + 25 mM MgCl₂

5,00 µL 2 mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

20 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

25 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

Das PCR Produkt wurde für 2 h bei 37°C mit den Restriktionsenzymen HindIII und BamHI inkubiert. Der Hefe-Expressionsvektor pYES3 (Invitrogen) wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurde das 812 bp bzw. 905 bp große PCR Produkt sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und Elongase cDNA ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pYES3-OmeELO2 und pYES3-OmeELO3 wurden durch Sequenzierung verifiziert und in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde pYES3 parallel transformiert. Anschliessend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Tryptophan mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die auf ohne Tryptophan im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES3, pYES3-OmeELO2 (SEQ NO: 5) und pYES3-OmeELO3 (SEQ NO:6). Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Beispiel 5: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende des kodierenden Sequenz eingefügt:

PSUN-OmeELO2

Forward: 5'-GCGGCCGCATAATGGCTTCAACATGGCAA

Reverse: 3'-GCGGCCGCTTATGTCTTCTTGCTCTTCCTGTT

PSUN-OmeELO3

Forward: 5'-GCGGCCGCataatggagacttttaat

Reverse: 3'-GCGGCCGtcagtcctccctcactttcc

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase) + 25 mM MgCl₂

5,00 µL 2mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37°C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschließend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel purification Kit gemäß Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-OmELO2 und pSUN-OmELO3 wurde durch Sequenzierung verifiziert.

- 10 pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standard-primer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz: 5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC GGATCTGCTGGCTATGAA-3'). Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nach-geschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es ent-stand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Trans-formation von Arabidopsis thaliana, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Beispiel 6: Lipidextraktion aus Hefen und Samen:

- 10 Die Auswirkung der genetischen Modifikation in Pflanzen, Pilzen, Algen, Ciliaten oder auf die Produktion einer gewünschten Verbindung (wie einer Fettsäure) kann bestimmt werden, indem die modifizierten Mikroorganismen oder die modifizierte Pflanze unter geeigneten Bedingungen (wie den vorstehend beschriebenen) gezüchtet werden und das Medium und/oder die zellulären Komponenten auf die erhöhte Produktion des gewünschten Produktes (d.h. von Lipiden oder einer Fettsäure) untersucht wird. Diese Analysetechniken sind dem Fachmann bekannt und umfassen Spektroskopie, Dünnschichtchromatographie, Färbeverfahren verschiedener Art, enzymatische und mikrobiologische Verfahren sowie analytische Chromatographie, wie Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (siehe beispielsweise Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A2, S. 89-90 und S. 443-613, VCH: Weinheim (1985); Fallon, A., et al., (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" in: Laboratory Techniques in Bio-chemistry and Molecular Biology, Bd. 17; Rehm et al. (1993) Biotechnology, Bd. 3,

- Kapitel III: "Product recovery and purification", S. 469-714, VCH: Weinheim; Belter, P.A., et al. (1988) Bioseparations: downstream processing for Biotechnology, John Wiley and Sons; Kennedy, J.F., und Cabral, J.M.S. (1992) Recovery processes for biological Materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J.A., und Henry, J.D. (1988) Biochemical Separations, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. B3; Kapitel 11, S. 1-27, VCH: Weinheim; und Dechow, F.J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

- Neben den oben erwähnten Verfahren werden Pflanzenlipide aus Pflanzenmaterial wie von Cahoon et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 (22):12935-12940, und Browse et al. (1986) Analytic Biochemistry 152:141-145, beschrieben extrahiert. Die qualitative und quantitative Lipid- oder Fettsäureanalyse ist beschrieben bei Christie, William W., Advances in Lipid Methodology, Ayr/Scotland: Oily Press (Oily Press Lipid Library; 2); Christie, William W., Gas Chromatography and Lipids. A Practical Guide - Ayr, Scotland: Oily Press, 1989, Repr. 1992, IX, 307 S. (Oily Press Lipid Library; 1); "Progress in Lipid Research, Oxford: Pergamon Press, 1 (1952) - 16 (1977) u.d.T.: Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids CODEN.

- Zusätzlich zur Messung des Endproduktes der Fermentation ist es auch möglich, andere Komponenten der Stoffwechselwege zu analysieren, die zur Produktion der gewünschten Verbindung verwendet werden, wie Zwischen- und Nebenprodukte, um die Gesamteffizienz der Produktion der Verbindung zu bestimmen. Die Analyseverfahren umfassen Messungen der Nährstoffmengen im Medium (z.B. Zucker, Kohlenwasserstoffe, Stickstoffquellen, Phosphat und andere Ionen), Messungen der Biomassezusammensetzung und des Wachstums, Analyse der Produktion üblicher Metabolite von Biosynthesewegen und Messungen von Gasen, die während der Fermentation erzeugt werden. Standardverfahren für diese Messungen sind in Applied Microbial Physiology; A Practical Approach, P.M. Rhodes und P.F. Stanbury, Hrsgb., IRL Press, S. 103-129; 131-163 und 165-192 (ISBN: 0199635773) und darin angegebenen Literaturstellen beschrieben.

- Ein Beispiel ist die Analyse von Fettsäuren (Abkürzungen: FAME, Fettsäuremethylester; GC-MS, Gas-Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie; TAG, Triacylglycerin; TLC, Dünnschichtchromatographie).

- Der unzweideutige Nachweis für das Vorliegen von Fettsäureprodukten kann mittels Analyse rekombinanter Organismen nach Standard-Analyseverfahren erhalten werden: GC, GC-MS oder TLC, wie verschiedentlich beschrieben von Christie und den Literaturstellen darin (1997, in: Advances on Lipid Methodology, Vierte Aufl.: Christie, Oily Press, Dundee, 119-169; 1998, Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Verfahren, Lipide 33:343-353).

- Das zu analysierende Material kann durch Ultraschallbehandlung, Mahlen in der Glasmühle, flüssigen Stickstoff und Mahlen oder über andere anwendbare Verfahren aufgebrochen werden. Das Material muss nach dem Aufbrechen zentrifugiert werden. Das Sediment wird in Aqua dest. resuspendiert, 10 min bei 100°C erhitzt, auf Eis

abgekühlt und erneut zentrifugiert, gefolgt von Extraktion in 0,5 M Schwefelsäure in Methanol mit 2 % Dimethoxypropan für 1 Std. bei 90°C, was zu hydrolysierten Öl- und Lipidverbindungen führt, die transmethylierte Lipide ergeben. Diese Fettsäuremethylester werden in Petrolether extrahiert und schließlich einer GC-Analyse unter Verwendung einer Kapillarsäule (Chrompack, WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 mikrom, 0,32 mm) bei einem Temperaturgradienten zwischen 170°C und 240°C für 20 min und 5 min bei 240°C unterworfen. Die Identität der erhaltenen Fettsäuremethylester muss unter Verwendung von Standards, die aus kommerziellen Quellen erhältlich sind (d.h. Sigma), definiert werden.

- 10 Pflanzenmaterial wird zunächst mechanisch durch Mörsern homogenisiert, um es einer Extraktion zugänglicher zu machen.

Dann wird 10 min auf 100°C erhitzt und nach dem Abkühlen auf Eis erneut sedimentiert. Das Zellsediment wird mit 1 M methanolischer Schwefelsäure und 2 % Dimethoxypropan 1h bei 90°C hydrolysiert und die Lipide transmethyliert. Die resultierenden Fettsäuremethylester (FAME) werden in Petrolether extrahiert. Die extrahierten FAME werden durch Gasflüssigkeitschromatographie mit einer Kapillarsäule (Chrompack, WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 m, 0,32 mm) und einem Temperaturgradienten von 170°C auf 240°C in 20 min und 5 min bei 240°C analysiert. Die Identität der Fettsäuremethylester wird durch Vergleich mit entsprechenden FAME-Standards (Sigma) bestätigt. Die Identität und die Position der Doppelbindung kann durch geeignete chemische Derivatisierung der FAME-Gemische z.B. zu 4,4-Dimethoxyoxazolin-Derivaten (Christie, 1998) mittels GC-MS weiter analysiert werden.

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES3, pYES3-OmELO2 und pYES3-OmELO3 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

- 25 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 10 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1N methanolischer Schwefelsäure und 2 % (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50 bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

- 40 Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma).

Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

5 Beispiel 7: Funktionelle Charakterisierung von OmELO2 und OmELO3:

OmELO2 zeigt keine Elongase-Aktivität, während für OmELO3 eine deutliche Aktivität mit verschiedenen Substraten nachgewiesen werden konnte. Die Substratspezifität der OmElo3 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 2). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Alle transgene Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OmElo3-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OmElo3 funktional exprimiert werden konnte.

Figur 2 zeigt, dass die OmElo3 eine Substratspezifität aufweist, die mit hoher Spezifität zur Verlängerung von Δ^5 - und Δ^6 -Fettsäuren mit einer ω^3 -Doppelbindung führt. Es konnte in geringerer Spezifität des weiteren auch ω^6 -Fettsäuren (C18 und C20) elongiert werden. Stearidonsäure (C18:4 ω^3) und Eicosapentaensäure (C20:5 ω^3) stellen die besten Substrate für die OmElo3 dar (bis zu 66 % Elongation).

Beispiel 8: Rekonstitution der Synthese von DHA in Hefe

Die Rekonstitution der Biosynthese von DHA (22:6 ω^3) wurde ausgehend von EPA (20:5 ω^3) bzw. Stearidonsäure (18:4 ω^3) durch die Coexpression der OmElo3 mit der Δ^4 -Desaturase aus *Euglena gracilis* bzw. der Δ^5 -Desaturase aus *Phaeodactylum tricornutum* und der Δ^4 -Desaturase aus *Euglena gracilis* durchgeführt. Dazu wurden weiterhin die Expressionsvektoren pYes2-EgD4 und pESCLEu-PtD5 konstruiert. Der o.g. Hefestamm, der bereits mit dem pYes3-OmElo3 (SEQ ID NO: 55) transformiert ist, wurde weiter mit dem pYes2-EgD4 bzw. gleichzeitig mit pYes2-EgD4 und pESCLEu-PtD5 transformiert. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplet-Minimalmedium-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Tryptophan und Uracil im Falle des pYes3-OmELO/pYes2-EgD4-Stammes und ohne Tryptophan, Uracil und Leucin im Falle des pYes3-OmELO/pYes2-EgD4+pESCLEu-PtD5-Stammes. Die Expression wurde wie oben angegeben durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 120 h bei 15°C inkubiert.

Figur 3 zeigt die Fettsäureprofile von transgenen Hefen, die mit 20:5 ω^3 gefüttert wurden. In der Kontroll-Hefe (A), die mit dem pYes3-OmElo3-Vektor und dem leeren Vektor pYes2 transformiert wurden, wurde 20:5 ω^3 sehr effizient zu 22:5 ω^3 elongiert (65% Elongation). Die zusätzliche Einführung der Eg Δ^4 -Desaturase führte zu der Umsetzung von 22:5 ω^3 zu 22:6 ω^3 (DHA). Die Fettsäure-Zusammensetzung der transgenen Hefen ist in Figure 5 wiedergegeben. Nach die Co-Expression von OmElo3 und EgD4 konnte bis zu 3% DHA in Hefen nachgewiesen werden.

- In einem weiteren Co-Expressionsexperiment wurden OmElo3, EgD4 und eine $\Delta 5$ -Desaturase aus *P. tricornutum* (PtD5) zusammen exprimiert. Die transgenen Hefen wurden mit Stearidonsäure (18:4 $\omega 3$) gefüttert und analysiert (Figur 4). Die Fettsäure-Zusammensetzung dieser Hefen ist in Figur 5 aufgeführt. Durch OmElo3 wurde die gefütterte 18:4 $\omega 3$ zu 20:4 $\omega 3$ elongiert (60% Elongation). Letztere wurde durch die PtD5 zu 20:5 $\omega 3$ desaturiert. Die Aktivität der PtD5 betrug 15%. 20:5 $\omega 3$ konnte weiterhin durch die OmElo3 zu 22:5 $\omega 3$ elongiert werden. Im Anschluß wurde die neu synthetisierte 22:5 $\omega 3$ zu 22:6 $\omega 3$ (DHA) desaturiert. In diesen Experimenten konnte bis zu 0,7% DHA erzielt werden.
- 10 Aus diesen Experimenten geht hervor, dass die in dieser Erfindung verwendeten Sequenzen OmElo3, EgD4 und PtD5 für die Produktion von DHA in eukaryotischen Zellen geeignet sind.

Beispiel 9: Erzeugung von transgenen Pflanzen

- a) Erzeugung transgener Rapspflanzen (verändert nach Moloney et al., 1992, Plant Cell Reports, 8:238-242)

Zur Erzeugung transgener Rapspflanzen wurden binäre Vektoren in *Agrobacterium tumefaciens* C58C1:pGV2260 oder *Escherichia coli* genutzt (Deblaere et al, 1984, Nucl. Acids. Res. 13, 4777-4788). Zur Transformation von Rapspflanzen (Var. Drakkar, NPZ Nordeutsche Pflanzenzucht, Hohenlieth, Deutschland), wurde eine 1:50 Verdünnung einer Übernachtskultur einer positiv transformierten *Agrobacterien*kolonie in Murashige-Skoog Medium (Murashige und Skoog 1962 Physiol. Plant. 15, 473) mit 3 % Saccharose (3MS-Medium) benutzt. Petiolen oder Hypokotyledonen frisch gekeimter steriler Rapspflanzen (zu je ca. 1 cm²) wurden in einer Petrischale mit einer 1:50 *Agrobacterien*verdünnung für 5-10 Minuten inkubiert. Es folgt eine 3-tägige CoInkubation in Dunkelheit bei 25°C auf 3MS-Medium mit 0,8 % Bacto-Agar. Die Kultivierung wurde nach 3 Tagen mit 16 Stunden Licht / 8 Stunden Dunkelheit weitergeführt und in wöchentlichem Rhythmus auf MS-Medium mit 500 mg/l Claforan (Cefotaxime-Natrium), 50 mg/l Kanamycin, 20 mikromol Benzylaminopurin (BAP) und 1,6 g/l Glukose weitergeführt. Wachsende Sprosse wurden auf MS-Medium mit 2 % Saccharose, 250 mg/l Claforan und 0,8 % Bacto-Agar überführt. Bildeten sich nach drei Wochen keine Wurzeln, so wurde als Wachstumshormon 2-Indolbuttersäure zum Bewurzeln zum Medium gegeben.

- Regenerierte Sprosse wurden auf 2MS-Medium mit Kanamycin und Claforan erhalten, nach Bewurzelung in Erde überführt und nach Kultivierung für zwei Wochen in einer Klimakammer oder im Gewächshaus angezogen, zur Blüte gebracht, reife Samen geerntet und auf Elongase-Expression wie $\Delta 5$ -Elongase- oder $\Delta 6$ -Elongaseaktivität oder $\omega 3$ -Desaturaseaktivität mittels Lipidanalysen untersucht. Linien mit erhöhten Gehalten an C20- und C22 mehrfach ungesättigten Fettsäuren wurden so identifiziert.

b) Herstellung von transgenen Leinpflanzen

- Die Herstellung von transgenen Leinpflanzen können zum Beispiel nach der Methode von Bell et al., 1999, In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 35(6):456-465 mittels particle bombardment erzeugt werden. Agrobakterien-vermittelte Transformationen können zum Beispiel nach Mlynarova et al. (1994), Plant Cell Report 13: 282-285 hergestellt werden.

Beispiel 10: Klonierung von $\Delta 5$ -Elongase-Genen aus *Thraustochytrium aureum* ATCC34304 und *Thraustochytrium* ssp.

- Durch Vergleiche der verschiedenen in dieser Anmeldung gefundenen Elongase-Proteinsequenzen konnten konservierte Nukleinsäurebereiche definiert werden (Histidin-Box: His-Val-X-His-His, Tyrosin-Box: Met-Tyr-X-Tyr-Tyr). Mit Hilfe dieser Sequenzen wurde eine EST-Datenbank von *T. aureum* ATCC34304 und *Thraustochytrium* ssp. nach weiteren $\Delta 5$ -Elongasen durchsucht. Folgende neue Sequenzen konnten gefunden werden:

Gen-Name	Nukleotide	Aminosäuren
BioTaurELO1	828 bp	275
TL16y2	831	276

- Gesamt-RNA von *T. aureum* ATCC34304 und *Thraustochytrium* ssp. wurde mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Qiagen (Valencia, CA, US) isoliert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe des PolyAtract Isolierungssystems (Promega) mRNA isoliert. Die mRNA wurde mit dem Marathon cDNA Amplification-Kit (BD Biosciences) reverse transkribiert und entsprechend der Herstellerangaben Adaptoren ligiert. Die cDNA-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden mittels 5'- und 3'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) verwendet.

Beispiel 11: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen

Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

5

Primer	Nukleotidsequenz
5' f* BioTaurELO1	5' gacataatgacgagcaacatgag
3' r* BioTaurELO1	5' cggcttaggccgacttggccttggg
5'f*TL16y2	5' agacataatggacgtcgtcgagcagcaatg
3'r*TL16y2	5' ttagatggctcttctgcttcttggcgcc

* f: forward, r: reverse

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

10 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase) + 25 mM MgCl₂

5,00 µL 2mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL pfu-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurde eingesetzt.

15

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

20 Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte BioTaurELO1 (siehe SEQ ID NO: 65) und TL16y2 (siehe SEQ ID NO: 83) wurde für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor pYES2.1-TOPO

(Invitrogen) inkubiert gemäss Herstellerangaben. Das PCR-Produkt wird dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer Topoisomerase (Invitrogen) in den Vektor ligiert.

25

Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von E. coli DH5α Zellen. Ent-

sprechende Klone wurden durch PCR identifiziert, die Plasmid-DNA mittels Qiagen

DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequenzierung verifiziert. Die korrekte Sequenz

wurde dann in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation

30

(1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel trans-

formiert. Anschließend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Uracil mit

2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne Uracil im Medium wachstumsfähig waren,

enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1, pYES2.1-BioTaurELO1 und

pYES2.1-TL16y2. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

5 Beispiel 12: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende des kodierenden Sequenz eingefügt:

10

PSUN-BioTaurELO1

Forward: 5'-GCGGCCGCATAATGACGAGCAACATGAGC

Reverse: 3'-GCGGCCGCTTAGGCCGACTTGGCCTTGGG

15

PSUN-TL16y2

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGGACGTCGTCGAGCAGCAATG

Reverse: 5'-GCGGCCGCTTAGATGGTCTTCTGCTTCTTGGGCGCC

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

20 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase) + 25 mM MgCl₂

5,00 µL 2mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

25

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

30

Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert.

Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert.

Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch

35

Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente

ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel Purification Kit

gemäss Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert.

Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide

pSUN-BioTaurELO1 und pSUN-TL16y2 wurden durch Sequenzierung verifiziert.

pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of *Agrobacterium* binary vectors for plant transformation. *Plant Mol Biol* 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem *A. tumefaciens* Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid-encoded octopine synthase gene *J. Mol. Appl. Genet.* 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standard-primer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz: 5'-GTGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC GGATCTGCTGGCTATGAA-3'). Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nach-geschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es ent-stand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

Beispiel 13: Funktionelle Charakterisierung von BioTaurELO1 und TL16y2::

Die Substratspezifität der BioTaurELO1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 6). Figur 6 zeigt die Fütterungs-experimente zur Bestimmung der Funktionalität und Substratspezifität mit Hefe-stämmen, die entweder den Vektor pYes2.1 (Kontrolle = Control) oder den Vektor pYes2.1-BioTaurELO1 (= BioTaur) mit der Δ -5-Elongase enthalten. In beiden Ansätzen wurde 200 μ M γ -Linolensäure und Eicosapentaensäure dem Hefeinkubationsmedium zugesetzt und 24 h inkubiert. Nach Extraktion der Fettsäuren aus den Hefen wurden diese transmethyliert und gaschromatographisch aufgetrennt. Die aus den beiden gefütterten Fettsäuren entstandenen Elongationsprodukte sind durch Pfeile markiert.

Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzu-weisen. Alle transgene Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der BioTaurELO1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen BioTaurELO1 funktional exprimiert werden konnte.

Figur 6 zeigt, dass die BioTaurELO1 eine Substratspezifität aufweist, die mit hoher Spezifität zur Verlängerung von Δ 5- und Δ 6-Fettsäuren mit einer ω 3-Doppelbindung führt. Des weiteren konnten auch ω 6-Fettsäuren (C18 und C20) elongiert werden. Es werden γ -Linolensäure (C18:3 ω 6) mit 65,28 %, Stearidonsäure (C18:4 ω 3) mit 65,66 % und Eicosapentaensäure (C20:5 ω 3) mit 22,01 % Konversion umgesetzt.

Die Substratspezifitäten der verschiedenen Fütterungsexperimente sind in Tabelle 2 dargestellt (siehe am Ende der Beschreibung).

Die Konversionsrate von GLA bei Fütterung von GLA und EPA betrug 65,28 %. Die Konversionsrate von EPA bei gleicher Fütterung von GLA und EPA betrug 9,99 %.

- 5 Wurde nur EPA gefüttert, so betrug die Konversionsrate von EPA 22,01 %. Auch Arachidonsäure (= ARA) wurde bei Fütterung umgesetzt. Die Konversionsrate betrug 14,47 %. Auch Stearidonsäure (= SDA) wurde umgesetzt. In diesem Fall betrug die Konversionsrate 65,66 %.

- 10 Die Funktionalität und Substratspezifität von TL16y2 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden. Tabelle 3 zeigt die Fütterungsexperimente. Die Fütterungsversuche wurden in gleicherweise durchgeführt wie für BioTaurELO1 beschrieben. Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TL16y2-Reaktion (Fig. 11). Dies bedeutet, dass das
- 15 Gen TL16y2 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 3: Expression von TL16y2 in Hefe.

Flächen der gaschromatographischen Analyse in %									
Plasmid	Fettsäure	C18:3 (n-6)	C18:4 (n-3)	C20:3 (n-6)	C20:4 (n-6)	C20:4 (n-3)	C20:5 (n-3)	C22:4 (n-6)	C22:5 (n-3)
pYES	250 µM EPA						13,79		
TL16y2	250 µM EPA						25,81		2,25
pYES	50 µM EPA						5,07		
TL16y2	50 µM EPA						2,48		1,73
pYES	250 µM GLA	8,31							
TL16y2	250 µM GLA	3,59		10,71					
pYES	250 µM ARA				16,03				
TL16y2	250 µM ARA				15,2		3,87		
pYES	250 µM SDA		26,79			0,35			
TL16y2	250 µM SDA		7,74			29,17			

Die in Tabelle 3 wiedergegebenen Ergebnisse zeigen mit TL16y2 gegenüber der Kontrolle folgende prozentuale Umsätze: a) % Umsatz EPA (250 μ M): 8 %, b) % Umsatz EPA (50 μ M): 41 %, c) % Umsatz ARA: 20,3 %, d) % Umsatz SDA: 79, 4% und e) % Umsatz GLA: 74,9 %.

- 5 TL16y2 zeigt damit Δ 5-, Δ 6- und Δ 8-Elongaseaktivität. Dabei ist die Aktivität für C18-Fettsäuren mit Δ 6-Doppelbindung am höchsten. Abhängig von der Konzentration an gefütterten Fettsäuren werden dann C20-Fettsäuren mit einer Δ 5- bzw. Δ 8-Doppelbindung verlängert.

Beispiel 14: Klonierung von Genen aus *Ostreococcus tauri*

- 10 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit Δ -5-Elongaseaktivität oder Δ -6-Elongaseaktivität konnten zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Ostreococcus tauri* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
OtELO1, (Δ -5-Elongase)	SEQ ID NO: 67	300
OtELO2, (Δ -6-Elongase)	SEQ ID NO: 69	292

- 15 OtElo1 weist die höchste Ähnlichkeit zu einer Elongase aus *Danio rerio* auf (GenBank AAN77156; ca. 26 % Identität), während OtElo2 die größte Ähnlichkeit zur *Physcomitrella Elo* (PSE) [ca. 36 % Identität] aufweist (Alignments wurden mit dem tBLASTn-Aalgorithmus (Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990, 215: 403 – 410) durchgeführt.

Die Klonierung wurde wie folgt durchgeführt:

- 20 40 ml einer *Ostreococcus tauri* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100 μ l Aqua bidest resuspendiert und bei -20°C gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der OtElo-DNAs wurde jeweils mit 1 μ l aufgetauten Zellen, 200 μ M dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50 μ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten
- 25
- 30 sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

Beispiel 15: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

5 Zur Charakterisierung der Funktion der Elongasen aus *Ostreococcus tauri* wurden die offenen Leserahmen der jeweiligen DNAs stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei pOTE1 und pOTE2 erhalten wurden.

10 Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pOTE1 bzw. pOTE2 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplet-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2 % Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

5 Für die Expression der Ot-Elongasen wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2 % (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert. 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine OD₆₀₀ von 0,05 angeimpft. Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

20 Beispiel 16: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

25 Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen wurden von den 5'- und 3-Bereich von OtElo1 und OtElo2 abgeleitet.

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

30 5,00 µL Template cDNA
5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase) + 25 mM MgCl₂
5,00 µL 2mM dNTP
1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
0,50 µL Advantage-Polymerase
Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

35 Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
Elongationstemperatur: 2 min 72°C
Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37°C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die
5 Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäß Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-OtELO1 und pSUN-OtELO2 wurde durch Sequenzierung verifiziert.

pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P.,
10 (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Ostreococcus-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J.,
15 Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines
20 synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz:

5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
GGATCTGCTGGCTATGAA-3').

25 Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/SalI nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von Arabidopsis thaliana, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Beispiel 17: Expression von OtELO1 und OtELO2 in Hefen

30 Hefen, die wie unter Beispiel 15 mit den Plasmiden pYES3, pYES3-OtELO1 und pYES3-OtELO2 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethyl-
35 ester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest.
40 gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-

Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 μ m, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50 bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

- 5 Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 18: Funktionelle Charakterisierung von OtELO1 und OtELO2:

Die Substratspezifität der OtElo1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab.4). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OtElo1 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 4 zeigt, dass die OtElo1 eine enge Substratspezifität aufweist. Die OtElo1 konnte nur die C20-Fettsäuren Eicosapentaensäure (Figur 7) und Arachidonsäure (Figur 8) elongieren, bevorzugte aber die ω -3-desaturierte Eicosapentaensäure.

20 Tabelle 4:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %)
16:0	-
16:1 ^{Δ9}	-
18:0	-
18:1 ^{Δ9}	-
18:1 ^{Δ11}	-
18:2 ^{Δ9,12}	-
18:3 ^{Δ6,9,12}	-
18:3 ^{Δ5,9,12}	-
20:3 ^{Δ8,11,14}	-

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %)
20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$	10,8 \pm 0,6
20:5 $\Delta^{5,8,11,14,17}$	46,8 \pm 3,6
22:4 $\Delta^{7,10,13,16}$	-
22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$	-

Tabelle 4 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo1 für C20 polyungesättigte Fettsäuren mit einer Doppelbindung in Δ^5 Position gegenüber verschiedenen Fettsäuren.

- 5 Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert ($n=3$) \pm Standardabweichung wieder.
- 10 Die Substratspezifität der OtElo2 (SEQ ID NO: 81) konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 5). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo2-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OtElo2 funktional exprimiert werden konnte.
- 15 Tabelle 5:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %)
16:0	-
16:1 Δ^9	-
16:3 $\Delta^{7,10,13}$	-
18:0	-
18:1 Δ^6	-
18:1 Δ^9	-
18:1 Δ^{11}	-
18:2 $\Delta^{9,12}$	-
18:3 $\Delta^{6,9,12}$	15,3\pm
18:3 $\Delta^{5,9,12}$	-

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %)
18:4 $\Delta^{6,9,12,15}$	21,1 \pm
20:2 $\Delta^{11,14}$	-
20:3 $\Delta^{8,11,14}$	-
20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$	-
20:5 $\Delta^{5,8,11,14,17}$	-
22:4 $\Delta^{7,10,13,16}$	-
22:5 $\Delta^{7,10,13,16,19}$	-
22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$	-

Tabelle 5 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo2 gegenüber verschiedenen Fettsäuren.

5 Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE2 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert ($n=3$) \pm Standardabweichung wieder.

10 Die enzymatische Aktivität, die in Tabelle 5 wiedergegeben wird, zeigt klar, dass OTEL2 eine Δ -6-Elongase ist.

Beispiel 19: Klonierung von Genen aus *Thallasiosira pseudonana*

5 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit Δ -5-Elongaseaktivität oder Δ -6-Elongaseaktivität konnten zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Thallasiosira pseudonana* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
TpELO1 (Δ 5-Elongase)	43	358
TpELO2 (Δ 5-Elongase)	59	358
TpELO3 (Δ 6-Elongase)	45	272

Eine 2 L Kultur von *T. pseudonana* wurde in f/2 Medium (Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In *Culture of*

- 5 *Marine Invertebrate Animals* (Eds. Smith, W.L. and Chanley, M.H.), Plenum Press, New York, pp 29–60.) für 14 d (= Tage) bei einer Lichtstärke von 80 E/cm² angezogen. Nach Zentrifugation der Zellen wurde RNA mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Quiagen (Valencia, CA, US) nach Herstellerangaben isoliert. Die mRNA wurde mit dem Marathon cDNA Amplification-Kit (BD Biosciences) reverse transkribiert und entsprechend den Herstellerangaben Adaptoren ligiert. Die cDNA-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden mittels 5'- und 3'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) verwendet.

- 10 Beispiel 20: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen

Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der TpElo-DNAs wurde jeweils mit 1 µL cDNA, 200 µM dNTPs, 2,5 U *Advantage*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50 µl durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

- 20 Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Gen-Name und SEQ ID NO:	Primersequenz
TpELO1 (Δ5-Elongase), SEQ ID NO: 59	F:5'-accatgtgctcaccaccgccgtc R:5'- ctacatggcaccagtaac
TpELO2 (Δ5-Elongase), SEQ ID NO: 85	F:5'-accatgtgctcatcaccgccgtc R:5'-ctacatggcaccagtaac
TpELO3 (Δ6-Elongase), SEQ ID NO:45	F:5'-accatggacgcctacaacgctgc R:5'- ctaagcactcttcttctt

*F=forward primer, R=reverse primer

- 25 Die PCR Produkte wurde für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor - pYES2.1-TOPO (Invitrogen) gemäß Herstellerangaben inkubiert. Das PCR-Produkt wird dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer Topoisomerase (Invitrogen) in den Vektor ligiert. Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von *E. coli* DH5α Zellen. Entsprechende Klone wurden durch PCR identifiziert, die Plasmid-DNA mittels Qiagen DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequenzierung verifiziert. Die korrekte Sequenz wurde dann in den *Saccharomyces* Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch

Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel transformiert. Anschließend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Uracil mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne Uracil im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1, pYES2.1-TpELO1, pYES2.1-TpELO2 und pYES2.1-TpELO3. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Beispiel 21: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt:

PSUN-TPELO1

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGTGCTCACCACCGCCGTC

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTACATGGCACCAGTAAC

PSUN-TPELO2

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGTGCTCATCACCACCGCCGTC

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTACATGGCACCAGTAAC

PSUN-TPELO3

Forward: 5'-GCGGCCGCaccatggacgcctacaacgctgc

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTAAGCACTCTTCTTCTTT

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase) + 25 mM MgCl₂

5,00 µL 2mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschließend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente

ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäß Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-TPELO1, pSUN-TPELO2 und pSUN-TPELO3 wurde durch Sequenzierung
5 verifiziert.

pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert.

(Primersequenz: 5'-

20 GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
GGATCTGCTGGCTATGAA-3').

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von Arabidopsis thaliana, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

Beispiel 22: Expression von TpELO1, TpELO2 und TpELO3 in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2, pYES2-TpELO1, pYES2-TpELO2 und pYES2-TpELO3 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2 % (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon

eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50 bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 23: Funktionelle Charakterisierung von TpELO1 und TpELO3:

Die Substratspezifität der TpELO1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 9). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TpELO1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen TpELO1 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 6 zeigt, dass die TpELO1 eine enge Substratspezifität aufweist. Die TpELO1 konnte nur die C20-Fettsäuren Eicosapentaensäure und Arachidonsäure elongieren, bevorzugte aber die ω-3-desaturierte Eicosapentaensäure.

Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-TpELO1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Tabelle 6: Expression von TpELO1 in Hefe. In den Spalten 1 und 3 sind die Kontrollreaktionen für die Spalten 2 (gefüttert 250 µM 20:4 Δ^{5,8,11,14}) und 4 (gefüttert 250 µM 20:5 Δ^{5,8,11,14,17}) wiedergegeben.

	Expression	Expression	Expression	Expression
Fettsäuren	1	2	3	4
16:0	18.8	17.8	25.4	25.2
16:1 ^{Δ⁹}	28.0	29.8	36.6	36.6
18:0	5.2	5.0	6.8	6.9
18:1 ^{Δ⁹}	25.5	23.6	24.6	23.9
20:4 ^{Δ^{5,8,11,14}}	22.5	23.4	-	-
22:4 ^{Δ^{7,10,13,16}}	-	0.4	-	-

91

	Expression	Expression	Expression	Expression
Fettsäuren	1	2	3	4
20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	-	-	6.6	6.5
22:5 ^{Δ7,10,13,16,19}	-	-	-	0.9
% Umsatz	0	1.7	0	12.2

Für TpELO2 konnte keine Umsetzung von C₁₈- und C₂₀-Fettsäuren nachgewiesen werden.

5 Die Substratspezifität der TpELO3 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 10). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TpELO3-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen TpELO3 funktional exprimiert werden konnte.

10 Tabelle 7 zeigt, dass die TpELO3 eine enge Substratspezifität aufweist. Die TpELO3 konnte nur die C₁₈-Fettsäuren γ -Linolensäure und Stearidonsäure elongieren, bevorzugte aber die ω -3-desaturierte Stearidonsäure.

15 Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-TpELO3 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Tabelle 7: Expression von TpELO3 in Hefe. Spalte 1 zeigt das Fettsäureprofil von Hefe ohne Fütterung. Spalte 2 zeigt die Kontrollreaktion. In den Spalten 3 bis 6 wurden γ -Linolensäure, Stearidonsäure, Arachidonsäure und Eicosapentaensäure gefüttert (250 μ M jeder Fettsäure).

Fettsäuren	1	2	3	4	5	6
16:0	17.9	20.6	17.8	16.7	18.8	18.8
16:1 ^{Δ9}	41.7	18.7	27.0	33.2	24.0	31.3
18:0	7.0	7.7	6.4	6.6	5.2	6.0
18:1 ^{Δ9}	33.3	16.8	24.2	31.8	25.5	26.4
18:2 ^{Δ9,12}	-	36.1	-	-	-	-
18:3 ^{Δ6,9,12}	-	-	6.1	-	-	-

Fettsäuren	1	2	3	4	5	6
18:4 ^{Δ6,9,12,15}	-	-	-	1.7	-	
20:2 ^{Δ11,14}	-	0	-	-	-	
20:3 ^{Δ8,11,14}	-	-	18.5	-	-	
20:4 ^{Δ8,11,14,17}	-	-	-	10.0	-	
20:4 ^{Δ5,8,11,14}	-	-	-	-	22.5	
22:4 ^{Δ7,10,13,16}	-	-	-	-	0	
20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	-	-	-	-	-	17.4
22:5 ^{Δ7,10,13,16,19}	-	-	-	-	-	0
% Umsatz	0	0	75	85	0	0

Beispiel 24: Klonierung eines Expressionsplasmides zur heterologen Expression der Pi-omega3Des in Hefen

Der Pi-omega3Des Klon wurde für die heterologe Expression in Hefen über PCR mit entsprechenden Pi-omega3Des spezifischen Primern in den Hefe-Expressionsvektor pYES3 kloniert. Dabei wurde ausschließlich der für das Pi-omega3Des Protein kodierende offene Leseraster des Gens amplifiziert und mit zwei Schnittstellen für die Klonierung in den pYES3 Expressionsvektor versehen:

- 10 Forward Primer: 5'-TAAGCTTACATGGCGACGAAGGAGG
Reverse Primer: 5'-TGGATCCACTTACGTGGACTTGGT

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase) + 25 mM MgCl₂

5,00 µL 2 mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL des 5'-ATG sowie des 3'-Stopp Primers)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

20

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

25 Anzahl der Zyklen: 35

Das PCR Produkt wurde für 2 h bei 37°C mit den Restriktionsenzymen HindIII und BamHI inkubiert. Der Hefe-Expressionsvektor pYES3 (Invitrogen) wurde in gleicherweise inkubiert. Anschließend wurde das 1104 bp große PCR Produkt sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und Desaturase-cDNA ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Das entstandene Plasmid pYES3-Pi-omega3Des wurde durch Sequenzierung überprüft und in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde pYES3 parallel transformiert. Anschliessend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Tryptophan mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die auf ohne Tryptophan im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES3, pYES3-Pi-omega3Des. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Beispiel 25: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt:

Reverse: 3'-GCGGCCGCTTACGTGGACTTGGTC
Forward: 5'-GCGGCCGCGatGGCGACGAAGGAGG

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase) + 25 mM MgCl₂

5,00 µL 2 mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 4 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert.

- Anschließend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert.
- 5 Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Das entstandene Plasmid pSUN-Piomega3Des wurde durch Sequenzierung verifiziert.

Beispiel 26: Expression von Pi-omega3Des in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 24 mit dem Plasmid pYES3 oder pYES3- Pi-omega3Des transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

- 10 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethyl-
- 15 ester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organi-
- 20 schen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-
- 25 Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert. Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit
- entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

30 Beispiel 27: Funktionelle Charakterisierung von Pi-omega3Des:

- Die Substratspezifität der konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 2 bis 8). Die gefütterten Substrate liegen in großen Mengen in allen transgenen Hefen vor, wodurch die Aufnahme dieser Fettsäuren in die Hefen bewiesen ist. Die transgenen Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den
- 35 Produkten der Pi-omega3Des-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen Pi-omega3Des funktional exprimiert werden konnte.

Figur 12 gibt die Desaturierung von Linolsäure (18:2 ω -6-Fettsäure) zu α -Linolensäure (18:3 ω -3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 12 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 12 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C18:2 ^{Δ 9,12}-Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

In Figur 13 ist die Desaturierung von γ -Linolensäure (18:3 ω -6-Fettsäure) zu Stearidonsäure (18:4 ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des wiedergegeben. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 13 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 13 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von γ -C18:3 ^{Δ 6,9,12}-Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 14 gibt die Desaturierung von C20:2- ω -6-Fettsäure zu C20:3- ω -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 14 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 14 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C20:2 ^{Δ 11,14}-Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 15 gibt die Desaturierung von C20:3- ω -6-Fettsäure zu C20:4- ω -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 15 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 15 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C20:3 ^{Δ 8,11,14}-Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

In Figur 16 wird die Desaturierung von Arachidonsäure (C20:4- ω -6-Fettsäure) zu Eicosapentaensäure (C20:5- ω -3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des gezeigt. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 16 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 16 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C20:4 ^{Δ 5,8,11,14}-Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 17 gibt die Desaturierung von Docosatetraensäure (C22:4- ω -6-Fettsäure) zu Docosapentaensäure (C22:5- ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen,

die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 17 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 17 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C22:4^{Δ7,10,13,16}-Fettsäure (300 μM) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

5

Die Substratspezifität der Pi-omega3Des gegenüber verschiedenen Fettsäuren ist Figur 18 zu entnehmen. Die Hefen, die mit dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt einen Mittelwert aus drei Messungen wieder. Die Umsetzungsraten (% Desaturation) wurden mit der Formel: $[\text{Produkt}]/([\text{Produkt}]+[\text{Substrat}]]*100$ errechnet.

10

Wie unter Beispiel 9 beschrieben kann auch die Pi-omega3Des zur Erzeugung transgener Pflanzen verwendet werden. Aus den Samen dieser Pflanzen kann dann die Lipidextraktion wie unter Beispiel 6 beschrieben erfolgen.

15

Äquivalente:

Der Fachmann erkennt oder kann viele Äquivalente der hier beschriebenen erfindungsgemäßen spezifischen Ausführungsformen feststellen, indem er lediglich Routineexperimente verwendet. Diese Äquivalente sollen von den Patentansprüchen umfasst sein.

20

Tabelle 2: Umsetzungsraten der gefütterten Fettsäuren. Die Konversionsraten wurden berechnet nach der Formel:

$$[\text{Konversionsrate}] = \frac{[\text{Produkt}]}{[\text{Substrat}] + [\text{Produkt}]} * 100.$$

BioTaur-Klone Fläche in % der GC-Analyse														
Clone	Fett-säure	C16:0	C16:1 (n-7)	C18:0	C18:1 (n-9)	C18:3 (n-6)	C18:4 (n-3)	C20:3 (n-6)	C20:4 (n-6)	C20:4 (n-3)	C20:5 (n-3)	C22:4 (n-6)	C22:4 (n-3)	C22:5 (n-3)
Vector	keine	21.261	41.576	4.670	25.330									
BioTaur	Keine	20.831	37.374	4.215	26.475									
Vector	GLA + EPA	22.053	23.632	5.487	17.289	11.574					13.792			
BioTaur	GLA + EPA	20.439	25.554	6.129	19.587	3.521		6.620			10.149			1.127
Vector	EPA	20.669	28.985	6.292	21.712						16.225			
BioTaur	EPA	20.472	26.913	6.570	23.131						11.519			3.251
Vector	ARA	23.169	23.332	6.587	12.735				27.069					
BioTaur	ARA	20.969	31.281	5.367	21.351				9.648			1.632		
Vector	SDA	18.519	12.626	6.642	6.344		47.911							
BioTaur	SDA	19.683	15.878	7.246	8.403		13.569			25.946			0.876	

Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in transgenen Organismen

Zusammenfassung

5 Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus, indem Nukleinsäuren in den Organismus eingebracht werden, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide der Biosynthese des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren, in dem Organismus exprimiert werden. Besonders vorteilhaft sind Nukleinsäuresequenzen, die für eine Δ -6-Elongaseaktivität codieren. 10 Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triacylglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

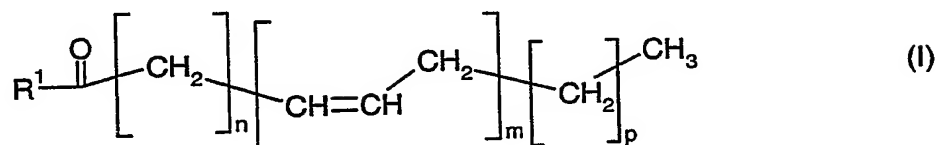
5 Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem in einer bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Herstellung von ungesättigten ω -3 Fettsäuren sowie ein Verfahren zur Herstellung von Triglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, besonders von ω -3 Fettsäuren mit mehr als drei Doppelbindungen. Die Erfindung betrifft die Herstellung eines transgenen Organismus bevorzugt einer transgenen Pflanze oder eines transgenen Mikroorganismus mit erhöhtem Gehalt an ungesättigten 20 ω -3-Fettsäuren, Ölen oder Lipiden mit ω -3-Doppelbindungen aufgrund der Expression einer ω -3-Desaturase aus Pilzen der Familie Pythiaceae wie der Gattung Phytophthora beispielsweise der Gattung und Art Phytophthora infestans.

25 Die Erfindung betrifft weiterhin die Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte, Vektoren und Organismen enthaltend die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Vektoren enthaltend die Nukleinsäuresequenzen und/oder die Nukleinsäurekonstrukte sowie transgene Organismen enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte und/oder Vektoren.

30 Ein weiterer Teil der Erfindung betrifft Öle, Lipide und/oder Fettsäuren hergestellt nach dem erfindungsgemäßen Verfahren und deren Verwendung.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I

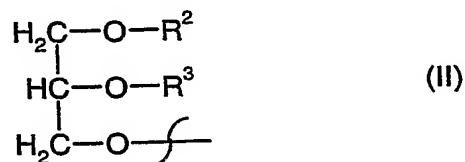


in transgenen Organismen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% dieser Verbindungen bezogen auf den Gesamtlipidgehalt des transgenen Organismus, dadurch gekennzeichnet, dass es folgende Verfahrensschritte umfasst:

- a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -9-Elongase- oder eine Δ -6-Desaturase-Aktivität codiert, und
- b) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -8-Desaturase- oder eine Δ -6-Elongase-Aktivität codiert, und
- c) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -5-Desaturase-Aktivität codiert, und
- d) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -5-Elongase-Aktivität codiert, und
- e) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -4-Desaturase-Aktivität codiert, und

wobei die Variablen und Substituenten in der Formel I die folgende Bedeutung haben:

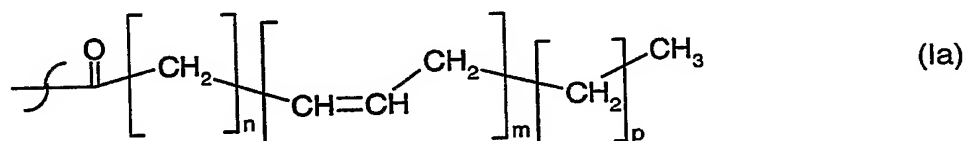
R^1 = Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II



2

$R^2 =$ Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-,

5 $R^3 =$ Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-, oder R^2 oder R^3 unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia:



$n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 9 , $m = 2, 3, 4, 5$ oder 6 und $p = 0$ oder 3 .

10 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus:

- 15 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Sequenz, oder
- 20
- 25 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von den in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82,
- 30
- 35

SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 dargestellten Aminosäuresequenzen ableiten lassen, oder

- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 codieren und eine Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturaseaktivität aufweisen.

- 30
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich in den Organismus eine Nukleinsäuresequenz eingebracht wird, die für Polypeptide mit ω 3-Desaturaseaktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- 35
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Sequenz, oder
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 codieren und eine ω 3-Desaturaseaktivität aufweisen.

4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 oder R^3 unabhängig voneinander gesättigtes oder ungesättigtes C_{18} - C_{22} -Alkylcarbonyl- bedeuten.
- 5 5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 oder R^3 unabhängig voneinander ungesättigtes C_{18} -, C_{20} - oder C_{22} -Alkylcarbonyl- mit mindestens zwei Doppelbindungen bedeuten.
6. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der transgene Organismus ein transgener Mikroorganismus oder eine transgene Pflanze ist.
- 10 7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass der transgene Organismus eine Öl-produzierende Pflanze, eine Gemüsepflanze oder Zierpflanze ist.
- 15 8. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die transgene Organismus eine transgene Pflanze ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzenfamilien: Adoltheciaceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Betulaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Caricaceae, Cannabaceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae, Cryptocodiniaceae, Cucurbitaceae, Ditrachaceae, Elaeagnaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Gramineae, Juglandaceae, Lauraceae, Leguminosae, Linaceae oder Prasinophyceae ist.
- 20 9. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I aus dem Organismus in Form ihrer Öle, Lipide oder freien Fettsäuren isoliert werden.
- 25 10. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I in einer Konzentration von mindestens 5 Gew.-% bezogenen auf den gesamten Lipidgehalt des transgenen Organismus isoliert werden.
- 30 11. Öl, Lipide oder Fettsäuren oder eine Fraktion davon, hergestellt durch das Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10.
12. Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung, die PUFAs hergestellt nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10 umfasst und von transgenen Pflanzen stammt.
- 35 13. Verfahren zur Herstellung von Ölen, Lipiden oder Fettsäurezusammensetzungen durch Mischen von Öl, Lipide oder Fettsäuren gemäß Anspruch 11 oder Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung gemäß Anspruch 12 mit tierischen Ölen, Lipiden oder Fettsäuren.

14. Verwendung von Öl, Lipide oder Fettsäuren gemäß Anspruch 11 oder Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung gemäß Anspruch 12 oder Ölen, Lipiden oder Fettsäurezusammensetzungen hergestellt gemäß Anspruch 13 in Futter, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika.

5 15. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

10 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Sequenz,

b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder

20 c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83 oder SEQ ID NO: 85 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84 oder SEQ ID NO: 86 codieren und eine Δ -5-Elongaseaktivität aufweisen.

25 16. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -6-Elongaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

30 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69 oder in SEQ ID NO: 81 dargestellten Sequenz,

b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70 oder SEQ ID NO: 82 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder

35 c) Derivate der in SEQ ID NO: 69 oder SEQ ID NO: 81 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70 oder SEQ ID NO: 82 codieren und eine Δ -6-Elongaseaktivität aufweisen.

17. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit ω -3-Desaturase-aktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 aufweisen und eine ω -3-Desaturaseaktivität aufweisen.

18. Isolierte Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 15, 16 oder 17, wobei die Sequenz von einer Alge, einem Pilz, einem Mikroorganismus, einer Pflanze oder einem nicht-humanen Tier stammt.

19. Isolierte Nukleinsäuresequenz nach den Ansprüchen 15 bis 18, wobei die Sequenz aus der Ordnung Salmoniformes, den Diatomeengattungen Thallasiosira oder Crythecodinium oder aus der Familie der Prasinophyceae oder Pythiaceae stammt.

20. Aminosäuresequenz, die von einer isolierten Nukleinsäuresequenz nach einem der Ansprüche 15 bis 19 codiert wird.

21. Genkonstrukt, enthaltend eine isolierte Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 15 bis 19, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen verbunden ist.

22. Genkonstrukt nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäurekonstrukt zusätzliche Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n).

23. Genkonstrukt nach Anspruch 21 oder 22, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäurekonstrukt zusätzliche Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe der Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -9-Desaturase-, Δ -12-Desaturase-, Δ -6-Elongase- oder Δ -9-Elongase.

24. Vektor, enthaltend eine Nukleinsäure nach den Ansprüchen 15 bis 19 oder ein Genkonstrukt nach Anspruch 22.
25. Transgener nicht-humaner Organismus, enthaltend mindestens eine Nukleinsäure nach den Ansprüchen 15 bis 19, ein Genkonstrukt nach Anspruch 22 oder einen Vektor nach Anspruch 24.
26. Transgener nicht-humaner Organismus nach Anspruch 25, wobei der Organismus ein Mikroorganismus, ein nicht-humanes Tier oder eine Pflanze ist.
27. Transgener nicht-humaner Organismus nach Anspruch 25 oder 26, wobei der Organismus eine Pflanze ist.

SEQUENCE LISTING

<110> BASF Plant Science GmbH

<120> Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in transgenen Organismen

<130> PF55372

<140> 20040177

<141> 2004-02-26

<160> 88

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1266

<212> DNA

<213> *Euglena gracilis*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1266)

<223> Delta-8-Desaturase

<400> 1

atg aag tca aag cgc caa gcg ctt ccc ctt aca att gat gga aca aca	48
Met Lys Ser Lys Arg Gln Ala Leu Pro Leu Thr Ile Asp Gly Thr Thr	
1 5 10 15	

tat gat gtg tct gcc tgg gtc aat ttc cac cct ggt ggt gcg gaa att	96
Tyr Asp Val Ser Ala Trp Val Asn Phe His Pro Gly Gly Ala Glu Ile	
20 25 30	

ata gag aat tac caa gga agg gat gcc act gat gcc ttc atg gtt atg	144
Ile Glu Asn Tyr Gln Gly Arg Asp Ala Thr Asp Ala Phe Met Val Met	
35 40 45	

cac tct caa gaa gcc ttc gac aag ctc aag cgc atg ccc aaa atc aat	192
His Ser Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Lys Arg Met Pro Lys Ile Asn	
50 55 60	

ccc agt tct gag ttg cca ccc cag gct gca gtg aat gaa gct caa gag	240
Pro Ser Ser Glu Leu Pro Pro Gln Ala Ala Val Asn Glu Ala Gln Glu	
65 70 75 80	

gat ttc cgg aag ctc cga gaa gag ttg atc gca act ggc atg ttt gat	288
Asp Phe Arg Lys Leu Arg Glu Glu Leu Ile Ala Thr Gly Met Phe Asp	
85 90 95	

gcc tcc ccc ctc tgg tac tca tac aaa atc agc acc aca ctg ggc ctt Ala Ser Pro Leu Trp Tyr Ser Tyr Lys Ile Ser Thr Thr Leu Gly Leu 100 105 110	336
gga gtg ctg ggt tat ttc ctg atg gtt cag tat cag atg tat ttc att Gly Val Leu Gly Tyr Phe Leu Met Val Gln Tyr Gln Met Tyr Phe Ile 115 120 125	384
ggg gca gtg ttg ctt ggg atg cac tat caa cag atg ggc tgg ctt tct Gly Ala Val Leu Leu Gly Met His Tyr Gln Gln Met Gly Trp Leu Ser 130 135 140	432
cat gac att tgc cac cac cag act ttc aag aac cgg aac tgg aac aac His Asp Ile Cys His His Gln Thr Phe Lys Asn Arg Asn Trp Asn Asn 145 150 155 160	480
ctc gtg gga ctg gta ttt ggc aat ggt ctg caa ggt ttt tcc gtg aca Leu Val Gly Leu Val Phe Gly Asn Gly Leu Gln Gly Phe Ser Val Thr 165 170 175	528
tgc tgg aag gac aga cac aat gca cat cat tcg gca acc aat gtt caa Cys Trp Lys Asp Arg His Asn Ala His His Ser Ala Thr Asn Val Gln 180 185 190	576
ggg cac gac cct gat att gac aac ctc ccc ctc tta gcc tgg tct gag Gly His Asp Pro Asp Ile Asp Asn Leu Pro Leu Leu Ala Trp Ser Glu 195 200 205	624
gat gac gtc aca cgg gcg tca ccg att tcc cgc aag ctc att cag ttc Asp Asp Val Thr Arg Ala Ser Pro Ile Ser Arg Lys Leu Ile Gln Phe 210 215 220	672
cag cag tat tat ttc ttg gtc atc tgt atc ttg ttg cgg ttc att tgg Gln Gln Tyr Tyr Phe Leu Val Ile Cys Ile Leu Leu Arg Phe Ile Trp 225 230 235 240	720
tgt ttc cag agc gtg ttg acc gtg cgc agt ctg aag gac aga gat aac Cys Phe Gln Ser Val Leu Thr Val Arg Ser Leu Lys Asp Arg Asp Asn 245 250 255	768
caa ttc tat cgc tct cag tat aag aag gag gcc att ggc ctc gcc ctg Gln Phe Tyr Arg Ser Gln Tyr Lys Lys Glu Ala Ile Gly Leu Ala Leu 260 265 270	816
cat tgg aca ttg aag gcc ctg ttc cac tta ttc ttt atg ccc agc atc His Trp Thr Leu Lys Ala Leu Phe His Leu Phe Phe Met Pro Ser Ile 275 280 285	864
ctc aca tcg ctg ttg gta ttt ttc gtt tcg gag ctg gtt ggc ggc ttc Leu Thr Ser Leu Leu Val Phe Phe Val Ser Glu Leu Val Gly Gly Phe 290 295 300	912
ggc att gcg atc gtg gtg ttc atg aac cac tac cca ctg gag aag atc Gly Ile Ala Ile Val Val Phe Met Asn His Tyr Pro Leu Glu Lys Ile 305 310 315 320	960

3

ggc gac tcg gtc tgg gat ggc cat gga ttc tcg gtt ggc cag atc cat 1008
 Gly Asp Ser Val Trp Asp Gly His Gly Phe Ser Val Gly Gln Ile His
 325 330 335

gag acc atg aac att cgg cga ggg att atc aca gat tgg ttt ttc gga 1056
 Glu Thr Met Asn Ile Arg Arg Gly Ile Ile Thr Asp Trp Phe Phe Gly
 340 345 350

ggc ttg aac tac cag atc gag cac cat ttg tgg ccg acc ctc cct cgc 1104
 Gly Leu Asn Tyr Gln Ile Glu His His Leu Trp Pro Thr Leu Pro Arg
 355 360 365

cac aac ctg aca gcg gtt agc tac cag gtg gaa cag ctg tgc cag aag 1152
 His Asn Leu Thr Ala Val Ser Tyr Gln Val Glu Gln Leu Cys Gln Lys
 370 375 380

cac aac ctg ccg tat cgg aac ccg ctg ccc cat gaa ggg ttg gtc atc 1200
 His Asn Leu Pro Tyr Arg Asn Pro Leu Pro His Glu Gly Leu Val Ile
 385 390 395 400

ctg ctg cgc tat ctg gcg gtg ttc gcc cgg atg gcg gag aag caa ccc 1248
 Leu Leu Arg Tyr Leu Ala Val Phe Ala Arg Met Ala Glu Lys Gln Pro
 405 410 415

gcg ggg aag gct cta taa 1266
 Ala Gly Lys Ala Leu
 420

<210> 2

<211> 421

<212> PRT

<213> Euglena gracilis

<400> 2

Met Lys Ser Lys Arg Gln Ala Leu Pro Leu Thr Ile Asp Gly Thr Thr
 1 5 10 15

Tyr Asp Val Ser Ala Trp Val Asn Phe His Pro Gly Gly Ala Glu Ile
 20 25 30

Ile Glu Asn Tyr Gln Gly Arg Asp Ala Thr Asp Ala Phe Met Val Met
 35 40 45

His Ser Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Lys Arg Met Pro Lys Ile Asn
 50 55 60

Pro Ser Ser Glu Leu Pro Pro Gln Ala Ala Val Asn Glu Ala Gln Glu
 65 70 75 80

Asp Phe Arg Lys Leu Arg Glu Glu Leu Ile Ala Thr Gly Met Phe Asp
 85 90 95

Ala Ser Pro Leu Trp Tyr Ser Tyr Lys Ile Ser Thr Thr Leu Gly Leu
100 105 110

Gly Val Leu Gly Tyr Phe Leu Met Val Gln Tyr Gln Met Tyr Phe Ile
115 120 125

Gly Ala Val Leu Leu Gly Met His Tyr Gln Gln Met Gly Trp Leu Ser
130 135 140

His Asp Ile Cys His His Gln Thr Phe Lys Asn Arg Asn Trp Asn Asn
145 150 155 160

Leu Val Gly Leu Val Phe Gly Asn Gly Leu Gln Gly Phe Ser Val Thr
165 170 175

Cys Trp Lys Asp Arg His Asn Ala His His Ser Ala Thr Asn Val Gln
180 185 190

Gly His Asp Pro Asp Ile Asp Asn Leu Pro Leu Leu Ala Trp Ser Glu
195 200 205

Asp Asp Val Thr Arg Ala Ser Pro Ile Ser Arg Lys Leu Ile Gln Phe
210 215 220

Gln Gln Tyr Tyr Phe Leu Val Ile Cys Ile Leu Leu Arg Phe Ile Trp
225 230 235 240

Cys Phe Gln Ser Val Leu Thr Val Arg Ser Leu Lys Asp Arg Asp Asn
245 250 255

Gln Phe Tyr Arg Ser Gln Tyr Lys Lys Glu Ala Ile Gly Leu Ala Leu
260 265 270

His Trp Thr Leu Lys Ala Leu Phe His Leu Phe Phe Met Pro Ser Ile
275 280 285

Leu Thr Ser Leu Leu Val Phe Phe Val Ser Glu Leu Val Gly Gly Phe
290 295 300

Gly Ile Ala Ile Val Val Phe Met Asn His Tyr Pro Leu Glu Lys Ile
305 310 315 320

Gly Asp Ser Val Trp Asp Gly His Gly Phe Ser Val Gly Gln Ile His
325 330 335

Glu Thr Met Asn Ile Arg Arg Gly Ile Ile Thr Asp Trp Phe Phe Gly
340 345 350

Gly Leu Asn Tyr Gln Ile Glu His His Leu Trp Pro Thr Leu Pro Arg
355 360 365

His Asn Leu Thr Ala Val Ser Tyr Gln Val Glu Gln Leu Cys Gln Lys
370 375 380

5

His Asn Leu Pro Tyr Arg Asn Pro Leu Pro His Glu Gly Leu Val Ile
 385 390 395 400

Leu Leu Arg Tyr Leu Ala Val Phe Ala Arg Met Ala Glu Lys Gln Pro
 405 410 415

Ala Gly Lys Ala Leu
 420

<210> 3

<211> 777

<212> DNA

<213> Isochrysis galbana

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(777)

<223> Delta-9-Elongase

<400> 3

atg gcc ctc gca aac gac gcg gga gag cgc atc tgg gcg gct gtg acc 48
 Met Ala Leu Ala Asn Asp Ala Gly Glu Arg Ile Trp Ala Ala Val Thr
 1 5 10 15

gac ccg gaa atc ctc att ggc acc ttc tcg tac ttg cta ctc aaa ccg 96
 Asp Pro Glu Ile Leu Ile Gly Thr Phe Ser Tyr Leu Leu Lys Pro
 20 25 30

ctg ctc cgc aat tcc ggg ctg gtg gat gag aag aag ggc gca tac agg 144
 Leu Leu Arg Asn Ser Gly Leu Val Asp Glu Lys Lys Gly Ala Tyr Arg
 35 40 45

acg tcc atg atc tgg tac aac gtt ctg ctg gcg ctc ttc tct gcg ctg 192
 Thr Ser Met Ile Trp Tyr Asn Val Leu Leu Ala Leu Phe Ser Ala Leu
 50 55 60

agc ttc tac gtg acg gcg acc gcc ctc ggc tgg gac tat ggt acg ggc 240
 Ser Phe Tyr Val Thr Ala Thr Ala Leu Gly Trp Asp Tyr Gly Thr Gly
 65 70 75 80

gcg tgg ctg cgc agg caa acc ggc gac aca ccg cag ccg ctc ttc cag 288
 Ala Trp Leu Arg Arg Gln Thr Gly Asp Thr Pro Gln Pro Leu Phe Gln
 85 90 95

tgc ccg tcc ccg gtt tgg gac tcg aag ctc ttc aca tgg acc gcc aag 336
 Cys Pro Ser Pro Val Trp Asp Ser Lys Leu Phe Thr Trp Thr Ala Lys
 100 105 110

6

gca ttc tat tac tcc aag tac gtg gag tac ctc gac acg gcc tgg ctg 384
 Ala Phe Tyr Tyr Ser Lys Tyr Val Glu Tyr Leu Asp Thr Ala Trp Leu
 115 120 125

agg gtc tcc ttt ctc cag gcc ttc cac cac ttt ggc gcg ccg tgg gat 432
 Arg Val Ser Phe Leu Gln Ala Phe His His Phe Gly Ala Pro Trp Asp
 130 135 140

gtg tac ctc ggc att cgg ctg cac aac gag ggc gta tgg atc ttc atg 480
 Val Tyr Leu Gly Ile Arg Leu His Asn Glu Gly Val Trp Ile Phe Met
 145 150 155 160

ttt ttc aac tcg ttc att cac acc atc atg tac acc tac tac ggc ctc 528
 Phe Phe Asn Ser Phe Ile His Thr Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu
 165 170 175

acc gcc gcc ggg tat aag ttc aag gcc aag ccg ctc atc acc gcg atg 576
 Thr Ala Ala Gly Tyr Lys Phe Lys Ala Lys Pro Leu Ile Thr Ala Met
 180 185 190

cag atc tgc cag ttc gtg ggc ggc ttc ctg ttg gtc tgg gac tac atc 624
 Gln Ile Cys Gln Phe Val Gly Gly Phe Leu Leu Val Trp Asp Tyr Ile
 195 200 205

aac gtc ccc tgc ttc aac tcg gac aaa ggg aag ttg ttc agc tgg gct 672
 Asn Val Pro Cys Phe Asn Ser Asp Lys Gly Lys Leu Phe Ser Trp Ala
 210 215 220

ttc aac tat gca tac gtc ggc tcg gtc ttc ttg ctc ttc tgc cac ttt 720
 Phe Asn Tyr Ala Tyr Val Gly Ser Val Phe Leu Leu Phe Cys His Phe
 225 230 235 240

ttc tac cag gac aac ttg gca acg aag aaa tcg gcc aag gcg ggc aag 768
 Phe Tyr Gln Asp Asn Leu Ala Thr Lys Lys Ser Ala Lys Ala Gly Lys
 245 250 255

cag ctc tag 777
 Gln Leu

<210> 4

<211> 258

<212> PRT

<213> Isochrysis galbana

<400> 4

Met Ala Leu Ala Asn Asp Ala Gly Glu Arg Ile Trp Ala Ala Val Thr
 1 5 10 15

Asp Pro Glu Ile Leu Ile Gly Thr Phe Ser Tyr Leu Leu Leu Lys Pro
 20 25 30

7

Leu Leu Arg Asn Ser Gly Leu Val Asp Glu Lys Lys Gly Ala Tyr Arg
35 40 45

Thr Ser Met Ile Trp Tyr Asn Val Leu Leu Ala Leu Phe Ser Ala Leu
50 55 60

Ser Phe Tyr Val Thr Ala Thr Ala Leu Gly Trp Asp Tyr Gly Thr Gly
65 70 75 80

Ala Trp Leu Arg Arg Gln Thr Gly Asp Thr Pro Gln Pro Leu Phe Gln
85 90 95

Cys Pro Ser Pro Val Trp Asp Ser Lys Leu Phe Thr Trp Thr Ala Lys
100 105 110

Ala Phe Tyr Tyr Ser Lys Tyr Val Glu Tyr Leu Asp Thr Ala Trp Leu
115 120 125

Arg Val Ser Phe Leu Gln Ala Phe His His Phe Gly Ala Pro Trp Asp
130 135 140

Val Tyr Leu Gly Ile Arg Leu His Asn Glu Gly Val Trp Ile Phe Met
145 150 155 160

Phe Phe Asn Ser Phe Ile His Thr Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu
165 170 175

Thr Ala Ala Gly Tyr Lys Phe Lys Ala Lys Pro Leu Ile Thr Ala Met
180 185 190

Gln Ile Cys Gln Phe Val Gly Gly Phe Leu Leu Val Trp Asp Tyr Ile
195 200 205

Asn Val Pro Cys Phe Asn Ser Asp Lys Gly Lys Leu Phe Ser Trp Ala
210 215 220

Phe Asn Tyr Ala Tyr Val Gly Ser Val Phe Leu Leu Phe Cys His Phe
225 230 235 240

Phe Tyr Gln Asp Asn Leu Ala Thr Lys Lys Ser Ala Lys Ala Gly Lys
245 250 255

Gln Leu

<210> 5

<211> 1410

<212> DNA

<213> Phaeodactylum tricornutum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1410)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 5

atg gct ccg gat gcg gat aag ctt cga caa cgc cag acg act gcg gta	48
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val	
1 5 10 15	
gcg aag cac aat gct gct acc ata tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt	96
Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser	
20 25 30	
ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa gtc tgc atc gac gga atc atc tat	144
Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr	
35 40 45	
gac ctc caa tca ttc gat cat ccc ggg ggt gaa acg atc aaa atg ttt	192
Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe	
50 55 60	
ggt ggc aac gat gtc act gta cag tac aag atg att cac ccg tac cat	240
Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His	
65 70 75 80	
acc gag aag cat ttg gaa aag atg aag cgt gtc ggc aag gtg acg gat	288
Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp	
85 90 95	
ttc gtc tgc gag tac aag ttc gat acc gaa ttt gaa cgc gaa atc aaa	336
Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys	
100 105 110	
cga gaa gtc ttc aag att gtg cga cga ggc aag gat ttc ggt act ttg	384
Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu	
115 120 125	
gga tgg ttc ttc cgt gcg ttt tgc tac att gcc att ttc ttc tac ctg	432
Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu	
130 135 140	
cag tac cat tgg gtc acc acg gga acc tct tgg ctg ctg gcc gtg gcc	480
Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala	
145 150 155 160	
tac gga atc tcc caa gcg atg att ggc atg aat gtc cag cac gat gcc	528
Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala	
165 170 175	
aac cac ggg gcc acc tcc aag cgt ccc tgg gtc aac gac atg cta ggc	576
Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly	
180 185 190	

ctc ggt gcg gat ttt att ggt ggt tcc aag tgg ctc tgg cag gaa caa Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln 195 200 205	624
cac tgg acc cac cac gct tac acc aat cac gcc gag atg gat ccc gat His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp 210 215 220	672
agc ttt ggt gcc gaa cca atg ctc cta ttc aac gac tat ccc ttg gat Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp 225 230 235 240	720
cat ccc gct cgt acc tgg cta cat cgc ttt caa gca ttc ttt tac atg His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met 245 250 255	768
ccc gtc ttg gct gga tac tgg ttg tcc gct gtc ttc aat cca caa att Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile 260 265 270	816
ctt gac ctc cag caa cgc gcc gca ctt tcc gtc ggt atc cgt ctc gac Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp 275 280 285	864
aac gct ttc att cac tcg cga cgc aag tat gcg gtt ttc tgg cgg gct Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala 290 295 300	912
gtg tac att gcg gtg aac gtg att gct ccg ttt tac aca aac tcc gcc Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly 305 310 315 320	960
ctc gaa tgg tcc tgg cgt gtc ttt gga aac atc atg ctc atg ggt gtg Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val 325 330 335	1008
gcg gaa tcg ctc gcg ctg gcg gtc ctg ttt tcg ttg tcg cac aat ttc Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe 340 345 350	1056
gaa tcc gcg gat cgc gat ccg acc gcc cca ctg aaa aag acg gga gaa Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu 355 360 365	1104
cca gtc gac tgg ttc aag aca cag gtc gaa act tcc tgc act tac ggt Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly 370 375 380	1152
gga ttc ctt tcc ggt tgc ttc acg gga ggt ctc aac ttt cag gtt gaa Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu 385 390 395 400	1200
cac cac ttg ttc cca cgc atg agc agc gct tgg tat ccc tac att gcc His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala 405 410 415	1248

10

ccc aag gtc cgc gaa att tgc gcc aaa cac ggc gtc cac tac gcc tac 1296
 Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr
 420 425 430

tac ccg tgg atc cac caa aac ttt ctc tcc acc gtc cgc tac atg cac 1344
 Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His
 435 440 445

gcg gcc ggg acc ggt gcc aac tgg cgc cag atg gcc aga gaa aat ccc 1392
 Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro
 450 455 460

ttg acc gga cgg gcg taa 1410
 Leu Thr Gly Arg Ala
 465

<210> 6

<211> 469

<212> PRT

<213> Phaeodactylum tricornutum

<400> 6

Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val
 1 5 10 15

Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser
 20 25 30

Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr
 35 40 45

Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe
 50 55 60

Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His
 65 70 75 80

Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp
 85 90 95

Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu
 115 120 125

Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu
 130 135 140

Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala
 145 150 155 160

11

Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala
 165 170 175
 Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly
 180 185 190
 Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln
 195 200 205
 His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp
 210 215 220
 Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp
 225 230 235 240
 His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met
 245 250 255
 Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile
 260 265 270
 Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp
 275 280 285
 Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala
 290 295 300
 Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly
 305 310 315 320
 Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val
 325 330 335
 Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe
 340 345 350
 Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu
 355 360 365
 Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly
 370 375 380
 Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu
 385 390 395 400
 His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala
 405 410 415
 Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr
 420 425 430
 Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His
 435 440 445
 Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro
 450 455 460

Leu Thr Gly Arg Ala
465

<210> 7

<211> 1344

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1344)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 7

atg gta tta cga gag caa gag cat gag cca ttc ttc att aaa att gat	48
Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp	
1 5 10 15	

gga aaa tgg tgt caa att gac gat gct gtc ctg aga tca cat cca ggt	96
Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly	
20 25 30	

ggt agt gca att act acc tat aaa aat atg gat gcc act acc gta ttc	144
Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe	
35 40 45	

cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa	192
His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu	
50 55 60	

ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag	240
Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys	
65 70 75 80	

gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat	288
Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn	
85 90 95	

att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta	336
Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu	
100 105 110	

cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc	384
Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe	
115 120 125	

13

tac att aga aaa att ctt gaa aca atc ttc aca att ctt ttt gca ttc Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe 130 135 140	432
tac ctt caa tac cac aca tat tat ctt cca tca gct att cta atg gga Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly 145 150 155 160	480
gtt gcg tgg caa caa ttg gga tgg tta atc cat gaa ttc gca cat cat Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His 165 170 175	528
cag ttg ttc aaa aac aga tac tac aat gat ttg gcc agc tat ttc gtt Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val 180 185 190	576
gga aac ttt tta caa gga ttc tca tct ggt ggt tgg aaa gag cag cac Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His 195 200 205	624
aat gtg cat cac gca gcc aca aat gtt gtt gga cga gac gga gat ctt Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu 210 215 220	672
gat tta gtc cca ttc tat gct aca gtg gca gaa cat ctc aac aat tat Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr 225 230 235 240	720
tct cag gat tca tgg gtt atg act cta ttc aga tgg caa cat gtt cat Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His 245 250 255	768
tgg aca ttc atg tta cca ttc ctc cgt ctc tcg tgg ctt ctt cag tca Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser 260 265 270	816
atc att ttt gtt agt cag atg cca act cat tat tat gac tat tac aga Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg 275 280 285	864
aat act gcg att tat gaa cag gtt ggt ctc tct ttg cac tgg gct tgg Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp 290 295 300	912
tca ttg ggt caa ttg tat ttc cta ccc gat tgg tca act aga ata atg Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met 305 310 315 320	960
ttc ttc ctt gtt tct cat ctt gtt gga ggt ttc ctg ctc tct cat gta Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val 325 330 335	1008
gtt act ttc aat cat tat tca gtg gag aag ttt gca ttg agc tcg aac Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn 340 345 350	1056

14

atc atg tca aat tac gct tgt ctt caa atc atg acc aca aga aat atg 1104
 Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met
 355 360 365

aga cct gga aga ttc att gac tgg ctt tgg gga ggt ctt aac tat cag 1152
 Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln
 370 375 380

att gag cac cat ctt ttc cca acg atg cca cga cac aac ttg aac act 1200
 Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr
 385 390 395 400

gtt atg cca ctt gtt aag gag ttt gca gca gca aat ggt tta cca tac 1248
 Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr
 405 410 415

atg gtc gac gat tat ttc aca gga ttc tgg ctt gaa att gag caa ttc 1296
 Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe
 420 425 430

cga aat att gca aat gtt gct gct aaa ttg act aaa aag att gcc tag 1344
 Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala
 435 440 445

<210> 8

<211> 447

<212> PRT

<213> Ceratodon purpureus

<400> 8

Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp
 1 5 10 15

Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly
 20 25 30

Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe
 35 40 45

His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu
 50 55 60

Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys
 65 70 75 80

Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn
 85 90 95

Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu
 100 105 110

15

Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe
 115 120 125
 Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe
 130 135 140
 Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly
 145 150 155 160
 Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His
 165 170 175
 Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val
 180 185 190
 Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His
 195 200 205
 Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu
 210 215 220
 Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr
 225 230 235 240
 Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His
 245 250 255
 Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser
 260 265 270
 Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg
 275 280 285
 Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp
 290 295 300
 Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met
 305 310 315 320
 Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val
 325 330 335
 Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn
 340 345 350
 Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met
 355 360 365
 Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln
 370 375 380
 Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr
 385 390 395 400
 Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr
 405 410 415

16

Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe
 420 425 430

Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala
 435 440 445

<210> 9

<211> 1443

<212> DNA

<213> Physcomitrella patens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1443)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 9

atg gcg ccc cac tct gcg gat act gct ggg ctc gtg cct tct gac gaa 48
 Met Ala Pro His Ser Ala Asp Thr Ala Gly Leu Val Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

ttg agg cta cga acg tcg aat tca aag ggt ccc gaa caa gag caa act 96
 Leu Arg Leu Arg Thr Ser Asn Ser Lys Gly Pro Glu Gln Glu Gln Thr
 20 25 30

ttg aag aag tac acc ctt gaa gat gtc agc cgc cac aac acc cca gca 144
 Leu Lys Lys Tyr Thr Leu Glu Asp Val Ser Arg His Asn Thr Pro Ala
 35 40 45

gat tgt tgg ttg gtg ata tgg ggc aaa gtc tac gat gtc aca agc tgg 192
 Asp Cys Trp Leu Val Ile Trp Gly Lys Val Tyr Asp Val Thr Ser Trp
 50 55 60

att ccc aat cat ccg ggg ggc agt ctc atc cac gta aaa gca ggg cag 240
 Ile Pro Asn His Pro Gly Gly Ser Leu Ile His Val Lys Ala Gly Gln
 65 70 75 80

gat tcc act cag ctt ttc gat tcc tat cac ccc ctt tat gtc agg aaa 288
 Asp Ser Thr Gln Leu Phe Asp Ser Tyr His Pro Leu Tyr Val Arg Lys
 85 90 95

atg ctc gcg aag tac tgt att ggg gaa tka gta ccg tct gct ggt gat 336
 Met Leu Ala Lys Tyr Cys Ile Gly Glu Xaa Val Pro Ser Ala Gly Asp
 100 105 110

gac aag ttt aag aaa gca act ctg rag tat gca gat gcc gaa aat gaa 384
 Asp Lys Phe Lys Lys Ala Thr Leu Xaa Tyr Ala Asp Ala Glu Asn Glu
 115 120 125

17

gat ttc tat ttg gtt gtg aag caa cga gtt gaa tct tat ttc aag agt Asp Phe Tyr Leu Val Val Lys Gln Arg Val Glu Ser Tyr Phe Lys Ser 130 135 140	432
aac aag ata aac ccc caa att cat cca cat atg atc ctg aag tca ttg Asn Lys Ile Asn Pro Gln Ile His Pro His Met Ile Leu Lys Ser Leu 145 150 155 160	480
ttc att ctt ggg gga tat ttc gcc agt tac tat tta gcg ttc ttc tgg Phe Ile Leu Gly Gly Tyr Phe Ala Ser Tyr Tyr Leu Ala Phe Phe Trp 165 170 175	528
tct tca agt gtc ctt gtt tct ttg ttt ttc gca ttg tgg atg ggg ttc Ser Ser Ser Val Leu Val Ser Leu Phe Phe Ala Leu Trp Met Gly Phe 180 185 190	576
ttc gca gcg gaa gtc ggc gtg tcg att caa cat gat gga aat cat ggt Phe Ala Ala Glu Val Gly Val Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly 195 200 205	624
tca tac act aaa tgg cgt ggc ttt gga tat atc atg gga gcc tcc cta Ser Tyr Thr Lys Trp Arg Gly Phe Gly Tyr Ile Met Gly Ala Ser Leu 210 215 220	672
gat cta gtc gga gcc agt agc ttc atg tgg aga cag caa cac gtt gtg Asp Leu Val Gly Ala Ser Ser Phe Met Trp Arg Gln Gln His Val Val 225 230 235 240	720
gga cat cac tcg ttt aca aat gtg gac aac tac gat cct gat att cgt Gly His His Ser Phe Thr Asn Val Asp Asn Tyr Asp Pro Asp Ile Arg 245 250 255	768
gtg aaa gat cca gat gtc agg agg gtt gcg acc aca caa cca aga caa Val Lys Asp Pro Asp Val Arg Arg Val Ala Thr Thr Gln Pro Arg Gln 260 265 270	816
tgg tat cat gcg tat cag cat atc tac ctg gca gta tta tat gga act Trp Tyr His Ala Tyr Gln His Ile Tyr Leu Ala Val Leu Tyr Gly Thr 275 280 285	864
cta gct ctt aag agt att ttt cta gat gat ttc ctt gcg tac ttc aca Leu Ala Leu Lys Ser Ile Phe Leu Asp Asp Phe Leu Ala Tyr Phe Thr 290 295 300	912
gga tca att ggc cct gtc aag gtg gcg aaa atg acc ccc ctg gag ttc Gly Ser Ile Gly Pro Val Lys Val Ala Lys Met Thr Pro Leu Glu Phe 305 310 315 320	960
aac atc ttc ttt cag gga aag ctg cta tat gcg ttc tac atg ttc gtg Asn Ile Phe Phe Gln Gly Lys Leu Leu Tyr Ala Phe Tyr Met Phe Val 325 330 335	1008
ttg cca tct gtg tac ggt gtt cac tcc gga gga act ttc ttg gca cta Leu Pro Ser Val Tyr Gly Val His Ser Gly Gly Thr Phe Leu Ala Leu 340 345 350	1056

18

tat gtg gct tct cag ctc att aca ggt tgg atg tta gct ttt ctt ttt 1104
Tyr Val Ala Ser Gln Leu Ile Thr Gly Trp Met Leu Ala Phe Leu Phe
355 360 365

caa gta gca cat gtc gtg gat gat gtt gca ttt cct aca cca gaa ggt 1152
Gln Val Ala His Val Val Asp Asp Val Ala Phe Pro Thr Pro Glu Gly
370 375 380

ggg aag gtg aag gga gga tgg gct gca atg cag gtt gca aca act acg 1200
Gly Lys Val Lys Gly Gly Trp Ala Ala Met Gln Val Ala Thr Thr Thr
385 390 395 400

gat ttc agt cca cgc tca tgg ttc tgg ggt cat gtc tct gga gga tta 1248
Asp Phe Ser Pro Arg Ser Trp Phe Trp Gly His Val Ser Gly Gly Leu
405 410 415

aac aac caa att gag cat cat ctg ttt cca gga gtg tgc cat gtt cat 1296
Asn Asn Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Gly Val Cys His Val His
420 425 430

tat cca gcc att cag cct att gtc gag aag acg tgc aag gaa ttc gat 1344
Tyr Pro Ala Ile Gln Pro Ile Val Glu Lys Thr Cys Lys Glu Phe Asp
435 440 445

gtg cct tat gta gcc tac cca act ttt tgg act gcg ttg aga gcc cac 1392
Val Pro Tyr Val Ala Tyr Pro Thr Phe Trp Thr Ala Leu Arg Ala His
450 455 460

ttt gcg cat ttg aaa aag gtt gga ttg aca gag ttt cgg ctc gat ggc 1440
Phe Ala His Leu Lys Lys Val Gly Leu Thr Glu Phe Arg Leu Asp Gly
465 470 475 480

tga 1443

<210> 10

<211> 480

<212> PRT

<213> Physcomitrella patens

<220>

<221> misc_feature

<222> (106)..(106)

<223> The 'Xaa' at location 106 stands for a stop codon, or Leu.

<220>

<221> misc_feature

19

<222> (121)..(121)

<223> The 'Xaa' at location 121 stands for Glu, or Lys.

<400> 10

Met Ala Pro His Ser Ala Asp Thr Ala Gly Leu Val Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Leu Arg Leu Arg Thr Ser Asn Ser Lys Gly Pro Glu Gln Glu Gln Thr
20 25 30

Leu Lys Lys Tyr Thr Leu Glu Asp Val Ser Arg His Asn Thr Pro Ala
35 40 45

Asp Cys Trp Leu Val Ile Trp Gly Lys Val Tyr Asp Val Thr Ser Trp
50 55 60

Ile Pro Asn His Pro Gly Gly Ser Leu Ile His Val Lys Ala Gly Gln
65 70 75 80

Asp Ser Thr Gln Leu Phe Asp Ser Tyr His Pro Leu Tyr Val Arg Lys
85 90 95

Met Leu Ala Lys Tyr Cys Ile Gly Glu Xaa Val Pro Ser Ala Gly Asp
100 105 110

Asp Lys Phe Lys Lys Ala Thr Leu Xaa Tyr Ala Asp Ala Glu Asn Glu
115 120 125

Asp Phe Tyr Leu Val Val Lys Gln Arg Val Glu Ser Tyr Phe Lys Ser
130 135 140

Asn Lys Ile Asn Pro Gln Ile His Pro His Met Ile Leu Lys Ser Leu
145 150 155 160

Phe Ile Leu Gly Gly Tyr Phe Ala Ser Tyr Tyr Leu Ala Phe Phe Trp
165 170 175

Ser Ser Ser Val Leu Val Ser Leu Phe Phe Ala Leu Trp Met Gly Phe
180 185 190

Phe Ala Ala Glu Val Gly Val Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly
195 200 205

Ser Tyr Thr Lys Trp Arg Gly Phe Gly Tyr Ile Met Gly Ala Ser Leu
210 215 220

Asp Leu Val Gly Ala Ser Ser Phe Met Trp Arg Gln Gln His Val Val
225 230 235 240

Gly His His Ser Phe Thr Asn Val Asp Asn Tyr Asp Pro Asp Ile Arg
245 250 255

Val Lys Asp Pro Asp Val Arg Arg Val Ala Thr Thr Gln Pro Arg Gln
260 265 270

20

Trp Tyr His Ala Tyr Gln His Ile Tyr Leu Ala Val Leu Tyr Gly Thr
275 280 285

Leu Ala Leu Lys Ser Ile Phe Leu Asp Asp Phe Leu Ala Tyr Phe Thr
290 295 300

Gly Ser Ile Gly Pro Val Lys Val Ala Lys Met Thr Pro Leu Glu Phe
305 310 315 320

Asn Ile Phe Phe Gln Gly Lys Leu Leu Tyr Ala Phe Tyr Met Phe Val
325 330 335

Leu Pro Ser Val Tyr Gly Val His Ser Gly Gly Thr Phe Leu Ala Leu
340 345 350

Tyr Val Ala Ser Gln Leu Ile Thr Gly Trp Met Leu Ala Phe Leu Phe
355 360 365

Gln Val Ala His Val Val Asp Asp Val Ala Phe Pro Thr Pro Glu Gly
370 375 380

Gly Lys Val Lys Gly Gly Trp Ala Ala Met Gln Val Ala Thr Thr Thr
385 390 395 400

Asp Phe Ser Pro Arg Ser Trp Phe Trp Gly His Val Ser Gly Gly Leu
405 410 415

Asn Asn Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Gly Val Cys His Val His
420 425 430

Tyr Pro Ala Ile Gln Pro Ile Val Glu Lys Thr Cys Lys Glu Phe Asp
435 440 445

Val Pro Tyr Val Ala Tyr Pro Thr Phe Trp Thr Ala Leu Arg Ala His
450 455 460

Phe Ala His Leu Lys Lys Val Gly Leu Thr Glu Phe Arg Leu Asp Gly
465 470 475 480

<210> 11

<211> 1320

<212> DNA

<213> Thraustrochytrium

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1320)

<223>

atg ggc aag ggc agc gag ggc cgc agc gcg gcg cgc gag atg acg gcc	48
Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala	
1 5 10 15	
 gag gcg aac ggc gac aag cgg aaa acg att ctg atc gag ggc gtc ctg	96
Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu	
20 25 30	
 tac gac gcg acg aac ttt aag cac ccg ggc ggt tcg atc atc aac ttc	144
Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe	
35 40 45	
 ttg acc gag ggc gag gcc ggc gtg gac gcg acg cag gcg tac cgc gag	192
Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu	
50 55 60	
 ttt cat cag cgg tcc ggc aag gcc gac aag tac ctc aag tcg ctg ccg	240
Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro	
65 70 75 80	
 aag ctg gat gcg tcc aag gtg gag tcg cgg ttc tcg gcc aaa gag cag	288
Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln	
85 90 95	
 gcg cgg cgc gac gcc atg acg cgc gac tac gcg gcc ttt cgc gag gag	336
Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu	
100 105 110	
 ctc gtc gcc gag ggg tac ttt gac ccg tcg atc ccg cac atg att tac	384
Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr	
115 120 125	
 cgc gtc gtg gag atc gtg gcg ctc ttc gcg ctc tcg ttc tgg ctc atg	432
Arg Val Val Glu Ile Val Ala Leu Phe Ala Leu Ser Phe Trp Leu Met	
130 135 140	
 tcc aag gcc tcg ccc acc tcg ctc gtg ctg ggc gtg gtg atg aac ggc	480
Ser Lys Ala Ser Pro Thr Ser Leu Val Leu Gly Val Val Met Asn Gly	
145 150 155 160	
 att gcg cag ggc cgc tgc ggc tgg gtc atg cac gag atg ggc cac ggg	528
Ile Ala Gln Gly Arg Cys Gly Trp Val Met His Glu Met Gly His Gly	
165 170 175	
 tcg ttc acg ggc gtc atc tgg ctc gac gac cgg atg tgc gag ttc ttc	576
Ser Phe Thr Gly Val Ile Trp Leu Asp Asp Arg Met Cys Glu Phe Phe	
180 185 190	
 tac ggc gtc ggc tgc ggc atg agc ggg cac tac tgg aag aac cag cac	624
Tyr Gly Val Gly Cys Gly Met Ser Gly His Tyr Trp Lys Asn Gln His	
195 200 205	

22

agc aag cac cac gcc gcg ccc aac cgc ctc gag cac gat gtc gat ctc Ser Lys His His Ala Ala Pro Asn Arg Leu Glu His Asp Val Asp Leu 210 215 220	672
aac acg ctg ccc ctg gtc gcc ttt aac gag cgc gtc gtg cgc aag gtc Asn Thr Leu Pro Leu Val Ala Phe Asn Glu Arg Val Val Arg Lys Val 225 230 235 240	720
aag ccg gga tcg ctg ctg gcg ctc tgg ctg cgc gtg cag gcg tac ctc Lys Pro Gly Ser Leu Leu Ala Leu Trp Leu Arg Val Gln Ala Tyr Leu 245 250 255	768
ttt gcg ccc gtc tcg tgc ctg ctc atc gcc ctt gcc tgg acg ctc tac Phe Ala Pro Val Ser Cys Leu Leu Ile Gly Leu Gly Trp Thr Leu Tyr 260 265 270	816
ctg cac ccg cgc tac atg ctg cgc acc aag cgg cac atg gag ttc gtc Leu His Pro Arg Tyr Met Leu Arg Thr Lys Arg His Met Glu Phe Val 275 280 285	864
tgg atc ttc gcg cgc tac att gcc tgg ttc tcg ctc atg gcc gct ctc Trp Ile Phe Ala Arg Tyr Ile Gly Trp Phe Ser Leu Met Gly Ala Leu 290 295 300	912
ggc tac tcg ccg gcc acc tcg gtc ggg atg tac ctg tgc tcg ttc gcc Gly Tyr Ser Pro Gly Thr Ser Val Gly Met Tyr Leu Cys Ser Phe Gly 305 310 315 320	960
ctc gcc tgc att tac att ttc ctg cag ttc gcc gtc agc cac acg cac Leu Gly Cys Ile Tyr Ile Phe Leu Gln Phe Ala Val Ser His Thr His 325 330 335	1008
ctg ccg gtg acc aac ccg gag gac cag ctg cac tgg ctc gag tac gcg Leu Pro Val Thr Asn Pro Glu Asp Gln Leu His Trp Leu Glu Tyr Ala 340 345 350	1056
gcc gac cac acg gtg aac att agc acc aag tcc tgg ctc gtc acg tgg Ala Asp His Thr Val Asn Ile Ser Thr Lys Ser Trp Leu Val Thr Trp 355 360 365	1104
tgg atg tcg aac ctg aac ttt cag atc gag cac cac ctc ttc ccc acg Trp Met Ser Asn Leu Asn Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr 370 375 380	1152
gcg ccg cag ttc cgc ttc aag gaa atc agt cct cgc gtc gag gcc ctc Ala Pro Gln Phe Arg Phe Lys Glu Ile Ser Pro Arg Val Glu Ala Leu 385 390 395 400	1200
ttc aag cgc cac aac ctc ccg tac tac gac ctg ccc tac acg agc gcg Phe Lys Arg His Asn Leu Pro Tyr Tyr Asp Leu Pro Tyr Thr Ser Ala 405 410 415	1248
gtc tcg acc acc ttt gcc aat ctt tat tcc gtc gcc cac tcg gtc gcc Val Ser Thr Thr Phe Ala Asn Leu Tyr Ser Val Gly His Ser Val Gly 420 425 430	1296

23

1320

gcc gac acc aag aag cag gac tga
Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp
435

<210> 12

<211> 439

<212> PRT

<213> Thraustrochytrium

<400> 12

Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala
1 5 10 15
Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu
20 25 30
Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe
35 40 45
Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu
50 55 60
Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro
65 70 75 80
Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu
100 105 110
Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr
115 120 125
Arg Val Val Glu Ile Val Ala Leu Phe Ala Leu Ser Phe Trp Leu Met
130 135 140
Ser Lys Ala Ser Pro Thr Ser Leu Val Leu Gly Val Val Met Asn Gly
145 150 155 160
Ile Ala Gln Gly Arg Cys Gly Trp Val Met His Glu Met Gly His Gly
165 170 175
Ser Phe Thr Gly Val Ile Trp Leu Asp Asp Arg Met Cys Glu Phe Phe
180 185 190
Tyr Gly Val Gly Cys Gly Met Ser Gly His Tyr Trp Lys Asn Gln His
195 200 205
Ser Lys His His Ala Ala Pro Asn Arg Leu Glu His Asp Val Asp Leu
210 215 220

24

Asn Thr Leu Pro Leu Val Ala Phe Asn Glu Arg Val Val Arg Lys Val
225 230 235 240

Lys Pro Gly Ser Leu Leu Ala Leu Trp Leu Arg Val Gln Ala Tyr Leu
245 250 255

Phe Ala Pro Val Ser Cys Leu Leu Ile Gly Leu Gly Trp Thr Leu Tyr
260 265 270

Leu His Pro Arg Tyr Met Leu Arg Thr Lys Arg His Met Glu Phe Val
275 280 285

Trp Ile Phe Ala Arg Tyr Ile Gly Trp Phe Ser Leu Met Gly Ala Leu
290 295 300

Gly Tyr Ser Pro Gly Thr Ser Val Gly Met Tyr Leu Cys Ser Phe Gly
305 310 315 320

Leu Gly Cys Ile Tyr Ile Phe Leu Gln Phe Ala Val Ser His Thr His
325 330 335

Leu Pro Val Thr Asn Pro Glu Asp Gln Leu His Trp Leu Glu Tyr Ala
340 345 350

Ala Asp His Thr Val Asn Ile Ser Thr Lys Ser Trp Leu Val Thr Trp
355 360 365

Trp Met Ser Asn Leu Asn Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr
370 375 380

Ala Pro Gln Phe Arg Phe Lys Glu Ile Ser Pro Arg Val Glu Ala Leu
385 390 395 400

Phe Lys Arg His Asn Leu Pro Tyr Tyr Asp Leu Pro Tyr Thr Ser Ala
405 410 415

Val Ser Thr Thr Phe Ala Asn Leu Tyr Ser Val Gly His Ser Val Gly
420 425 430

Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp
435

<210> 13

<211> 1341

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1341)

25

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 13

atg gga acg gac caa gga aaa acc ttc acc tgg gaa gag ctg gcg gcc	48
Met Gly Thr Asp Gln Gly Lys Thr Phe Thr Trp Glu Glu Leu Ala Ala	
1 5 10 15	
cat aac acc aag gac gac cta ctc ttg gcc atc cgc ggc agg gtg tac	96
His Asn Thr Lys Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ile Arg Gly Arg Val Tyr	
20 25 30	
gat gtc aca aag ttc ttg agc cgc cat cct ggt gga gtg gac act ctc	144
Asp Val Thr Lys Phe Leu Ser Arg His Pro Gly Gly Val Asp Thr Leu	
35 40 45	
ctg ctc gga gct ggc cga gat gtt act ccg gtc ttt gag atg tat cac	192
Leu Leu Gly Ala Gly Arg Asp Val Thr Pro Val Phe Glu Met Tyr His	
50 55 60	
gcg ttt ggg gct gca gat gcc att atg aag aag tac tat gtc ggt aca	240
Ala Phe Gly Ala Ala Asp Ala Ile Met Lys Lys Tyr Tyr Val Gly Thr	
65 70 75 80	
ctg gtc tcg aat gag ctg ccc atc ttc ccg gag cca acg gtg ttc cac	288
Leu Val Ser Asn Glu Leu Pro Ile Phe Pro Glu Pro Thr Val Phe His	
85 90 95	
aaa acc atc aag acg aga gtc gag ggc tac ttt acg gat cgg aac att	336
Lys Thr Ile Lys Thr Arg Val Glu Gly Tyr Phe Thr Asp Arg Asn Ile	
100 105 110	
gat ccc aag aat aga cca gag atc tgg gga cga tac gct ctt atc ttt	384
Asp Pro Lys Asn Arg Pro Glu Ile Trp Gly Arg Tyr Ala Leu Ile Phe	
115 120 125	
gga tcc ttg atc gct tcc tac tac gcg cag ctc ttt gtg cct ttc gtt	432
Gly Ser Leu Ile Ala Ser Tyr Tyr Ala Gln Leu Phe Val Pro Phe Val	
130 135 140	
gtc gaa cgc aca tgg ctt cag gtg gtg ttt gca atc atc atg gga ttt	480
Val Glu Arg Thr Trp Leu Gln Val Val Phe Ala Ile Ile Met Gly Phe	
145 150 155 160	
gcg tgc gca caa gtc gga ctc aac cct ctt cat gat gcg tct cac ttt	528
Ala Cys Ala Gln Val Gly Leu Asn Pro Leu His Asp Ala Ser His Phe	
165 170 175	
tca gtg acc cac aac ccc act gtc tgg aag att ctg gga gcc acg cac	576
Ser Val Thr His Asn Pro Thr Val Trp Lys Ile Leu Gly Ala Thr His	
180 185 190	
gac ttt ttc aac gga gca tcg tac ctg gtg tgg atg tac caa cat atg	624
Asp Phe Phe Asn Gly Ala Ser Tyr Leu Val Trp Met Tyr Gln His Met	
195 200 205	

26

ctc ggc cat cac ccc tac acc aac att gct gga gca gat ccc gac gtg Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Ile Ala Gly Ala Asp Pro Asp Val 210 215 220	672
tcg acg tct gag ccc gat gtt cgt cgt atc aag ccc aac caa aag tgg Ser Thr Ser Glu Pro Asp Val Arg Arg Ile Lys Pro Asn Gln Lys Trp 225 230 235 240	720
ttt gtc aac cac atc aac cag cac atg ttt gtt cct ttc ctg tac gga Phe Val Asn His Ile Asn Gln His Met Phe Val Pro Phe Leu Tyr Gly 245 250 255	768
ctg ctg gcg ttc aag gtg cgc att cag gac atc aac att ttg tac ttt Leu Leu Ala Phe Lys Val Arg Ile Gln Asp Ile Asn Ile Leu Tyr Phe 260 265 270	816
gtc aag acc aat gac gct att cgt gtc aat ccc atc tcg aca tgg cac Val Lys Thr Asn Asp Ala Ile Arg Val Asn Pro Ile Ser Thr Trp His 275 280 285	864
act gtg atg ttc tgg ggc ggc aag gct ttc ttt gtc tgg tat cgc ctg Thr Val Met Phe Trp Gly Gly Lys Ala Phe Phe Val Trp Tyr Arg Leu 290 295 300	912
att gtt ccc ctg cag tat ctg ccc ctg ggc aag gtg ctg ctc ttg ttc Ile Val Pro Leu Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Lys Val Leu Leu Leu Phe 305 310 315 320	960
acg gtc gcg gac atg gtg tcg tct tac tgg ctg gcg ctg acc ttc cag Thr Val Ala Asp Met Val Ser Ser Tyr Trp Leu Ala Leu Thr Phe Gln 325 330 335	1008
gcg aac cac gtt gtt gag gaa gtt cag tgg ccg ttg cct gac gag aac Ala Asn His Val Val Glu Glu Val Gln Trp Pro Leu Pro Asp Glu Asn 340 345 350	1056
ggg atc atc caa aag gac tgg gca gct atg cag gtc gag act acg cag Gly Ile Ile Gln Lys Asp Trp Ala Ala Met Gln Val Glu Thr Thr Gln 355 360 365	1104
gat tac gca cac gat tcg cac ctc tgg acc agc atc act ggc agc ttg Asp Tyr Ala His Asp Ser His Leu Trp Thr Ser Ile Thr Gly Ser Leu 370 375 380	1152
aac tac cag gct gtg cac cat ctg ttc ccc aac gtg tcg cag cac cat Asn Tyr Gln Ala Val His His Leu Phe Pro Asn Val Ser Gln His His 385 390 395 400	1200
tat ccc gat att ctg gcc atc atc aag aac acc tgc agc gag tac aag Tyr Pro Asp Ile Leu Ala Ile Ile Lys Asn Thr Cys Ser Glu Tyr Lys 405 410 415	1248
gtt cca tac ctt gtc aag gat acg ttt tgg caa gca ttt gct tca cat Val Pro Tyr Leu Val Lys Asp Thr Phe Trp Gln Ala Phe Ala Ser His 420 425 430	1296

27

ttg gag cac ttg cgt gtt ctt gga ctc cgt ccc aag gaa gag tag 1341
Leu Glu His Leu Arg Val Leu Gly Leu Arg Pro Lys Glu Glu
435 440 445

<210> 14

<211> 446

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

<400> 14

Met Gly Thr Asp Gln Gly Lys Thr Phe Thr Trp Glu Glu Leu Ala Ala
1 5 10 15

His Asn Thr Lys Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ile Arg Gly Arg Val Tyr
20 25 30

Asp Val Thr Lys Phe Leu Ser Arg His Pro Gly Gly Val Asp Thr Leu
35 40 45

Leu Leu Gly Ala Gly Arg Asp Val Thr Pro Val Phe Glu Met Tyr His
50 55 60

Ala Phe Gly Ala Ala Asp Ala Ile Met Lys Lys Tyr Tyr Val Gly Thr
65 70 75 80

Leu Val Ser Asn Glu Leu Pro Ile Phe Pro Glu Pro Thr Val Phe His
85 90 95

Lys Thr Ile Lys Thr Arg Val Glu Gly Tyr Phe Thr Asp Arg Asn Ile
100 105 110

Asp Pro Lys Asn Arg Pro Glu Ile Trp Gly Arg Tyr Ala Leu Ile Phe
115 120 125

Gly Ser Leu Ile Ala Ser Tyr Tyr Ala Gln Leu Phe Val Pro Phe Val
130 135 140

Val Glu Arg Thr Trp Leu Gln Val Val Phe Ala Ile Ile Met Gly Phe
145 150 155 160

Ala Cys Ala Gln Val Gly Leu Asn Pro Leu His Asp Ala Ser His Phe
165 170 175

Ser Val Thr His Asn Pro Thr Val Trp Lys Ile Leu Gly Ala Thr His
180 185 190

Asp Phe Phe Asn Gly Ala Ser Tyr Leu Val Trp Met Tyr Gln His Met
195 200 205

Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Ile Ala Gly Ala Asp Pro Asp Val
210 215 220

28

Ser Thr Ser Glu Pro Asp Val Arg Arg Ile Lys Pro Asn Gln Lys Trp
225 230 235 240

Phe Val Asn His Ile Asn Gln His Met Phe Val Pro Phe Leu Tyr Gly
245 250 255

Leu Leu Ala Phe Lys Val Arg Ile Gln Asp Ile Asn Ile Leu Tyr Phe
260 265 270

Val Lys Thr Asn Asp Ala Ile Arg Val Asn Pro Ile Ser Thr Trp His
275 280 285

Thr Val Met Phe Trp Gly Gly Lys Ala Phe Phe Val Trp Tyr Arg Leu
290 295 300

Ile Val Pro Leu Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Lys Val Leu Leu Leu Phe
305 310 315 320

Thr Val Ala Asp Met Val Ser Ser Tyr Trp Leu Ala Leu Thr Phe Gln
325 330 335

Ala Asn His Val Val Glu Glu Val Gln Trp Pro Leu Pro Asp Glu Asn
340 345 350

Gly Ile Ile Gln Lys Asp Trp Ala Ala Met Gln Val Glu Thr Thr Gln
355 360 365

Asp Tyr Ala His Asp Ser His Leu Trp Thr Ser Ile Thr Gly Ser Leu
370 375 380

Asn Tyr Gln Ala Val His His Leu Phe Pro Asn Val Ser Gln His His
385 390 395 400

Tyr Pro Asp Ile Leu Ala Ile Ile Lys Asn Thr Cys Ser Glu Tyr Lys
405 410 415

Val Pro Tyr Leu Val Lys Asp Thr Phe Trp Gln Ala Phe Ala Ser His
420 425 430

Leu Glu His Leu Arg Val Leu Gly Leu Arg Pro Lys Glu Glu
435 440 445

<210> 15

<211> 1344

<212> DNA

<213> Caenorhabditis elegans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1344)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 15

atg gta tta cga gag caa gag cat gag cca ttc ttc att aaa att gat	48
Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp	
1 5 10 15	
gga aaa tgg tgt caa att gac gat gct gtc ctg aga tca cat cca ggt	96
Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly	
20 25 30	
ggt agt gca att act acc tat aaa aat atg gat gcc act acc gta ttc	144
Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe	
35 40 45	
cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa	192
His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu	
50 55 60	
ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag	240
Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys	
65 70 75 80	
gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat	288
Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn	
85 90 95	
att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta	336
Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu	
100 105 110	
cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc	384
Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe	
115 120 125	
tac att aga aaa att ctt gaa aca atc ttc aca att ctt ttt gca ttc	432
Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe	
130 135 140	
tac ctt caa tac cac aca tat tat ctt cca tca gct att cta atg gga	480
Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly	
145 150 155 160	
gtt gcg tgg caa caa ttg gga tgg tta atc cat gaa ttc gca cat cat	528
Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His	
165 170 175	
cag ttg ttc aaa aac aga tac tac aat gat ttg gcc agc tat ttc gtt	576
Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val	
180 185 190	
gga aac ttt tta caa gga ttc tca tct ggt ggt tgg aaa gag cag cac	624
Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His	
195 200 205	

30

aat gtg cat cac gca gcc aca aat gtt gtt gga cga gac gga gat ctt Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu 210 215 220	672
gat tta gtc cca ttc tat gct aca gtg gca gaa cat ctc aac aat tat Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr 225 230 235 240	720
tct cag gat tca tgg gtt atg act cta ttc aga tgg caa cat gtt cat Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His 245 250 255	768
tgg aca ttc atg tta cca ttc ctc cgt ctc tcg tgg ctt ctt cag tca Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser 260 265 270	816
atc att ttt gtt agt cag atg cca act cat tat tat gac tat tac aga Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg 275 280 285	864
aat act gcg att tat gaa cag gtt ggt ctc tct ttg cac tgg gct tgg Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp 290 295 300	912
tca ttg ggt caa ttg tat ttc cta ccc gat tgg tca act aga ata atg Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met 305 310 315 320	960
ttc ttc ctt gtt tct cat ctt gtt gga ggt ttc ctg ctc tct cat gta Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val 325 330 335	1008
gtt act ttc aat cat tat tca gtg gag aag ttt gca ttg agc tcg aac Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn 340 345 350	1056
atc atg tca aat tac gct tgt ctt caa atc atg acc aca aga aat atg Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met 355 360 365	1104
aga cct gga aga ttc att gac tgg ctt tgg gga ggt ctt aac tat cag Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln 370 375 380	1152
att gag cac cat ctt ttc cca acg atg cca cga cac aac ttg aac act Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr 385 390 395 400	1200
gtt atg cca ctt gtt aag gag ttt gca gca gca aat ggt tta cca tac Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr 405 410 415	1248
atg gtc gac gat tat ttc aca gga ttc tgg ctt gaa att gag caa ttc Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe 420 425 430	1296

31

cga aat att gca aat gtt gct gct aaa ttg act aaa aag att gcc tag 1344
 Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala
 435 440 445

<210> 16

<211> 447

<212> PRT

<213> Caenorhabditis elegans

<400> 16

Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp
 1 5 10 15

Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly
 20 25 30

Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe
 35 40 45

His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu
 50 55 60

Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys
 65 70 75 80

Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn
 85 90 95

Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu
 100 105 110

Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe
 115 120 125

Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe
 130 135 140

Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly
 145 150 155 160

Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His
 165 170 175

Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val
 180 185 190

Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His
 195 200 205

Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu
 210 215 220

32

Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr
225 230 235 240

Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His
245 250 255

Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser
260 265 270

Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg
275 280 285

Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp
290 295 300

Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met
305 310 315 320

Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val
325 330 335

Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn
340 345 350

Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met
355 360 365

Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln
370 375 380

Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr
385 390 395 400

Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr
405 410 415

Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe
420 425 430

Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala
435 440 445

<210> 17

<211> 1683

<212> DNA

<213> Borago officinalis

<220>

<221> CDS

<222> (42)..(1388)

33

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 17

tatctgccta ccctcccaaa gagagtagtc atttttcac	a atg gct gct caa atc	56
	Met Ala Ala Gln Ile	
	1 5	
aag aaa tac att acc tca gat gaa ctc aag aac cac gat aaa ccc gga		104
Lys Lys Tyr Ile Thr Ser Asp Glu Leu Lys Asn His Asp Lys Pro Gly		
	10 15 20	
gat cta tgg atc tcg att caa ggg aaa gcc tat gat gtt tcg gat tgg		152
Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr Asp Val Ser Asp Trp		
	25 30 35	
gtg aaa gac cat cca ggt ggc agc ttt ccc ttg aag agt ctt gct ggt		200
Val Lys Asp His Pro Gly Gly Ser Phe Pro Leu Lys Ser Leu Ala Gly		
	40 45 50	
caa gag gta act gat gca ttt gtt gca ttc cat cct gcc tct aca tgg		248
Gln Glu Val Thr Asp Ala Phe Val Ala Phe His Pro Ala Ser Thr Trp		
	55 60 65	
aag aat ctt gat aag ttt ttc act ggg tat tat ctt aaa gat tac tct		296
Lys Asn Leu Asp Lys Phe Phe Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys Asp Tyr Ser		
	70 75 80 85	
gtt tct gag gtt tct aaa gat tat agg aag ctt gtg ttt gag ttt tct		344
Val Ser Glu Val Ser Lys Asp Tyr Arg Lys Leu Val Phe Glu Phe Ser		
	90 95 100	
aaa atg ggt ttg tat gac aaa aaa ggt cat att atg ttt gca act ttg		392
Lys Met Gly Leu Tyr Asp Lys Lys Gly His Ile Met Phe Ala Thr Leu		
	105 110 115	
tgc ttt ata gca atg ctg ttt gct atg agt gtt tat ggg gtt ttg ttt		440
Cys Phe Ile Ala Met Leu Phe Ala Met Ser Val Tyr Gly Val Leu Phe		
	120 125 130	
tgt gag ggt gtt ttg gta cat ttg ttt tct ggg tgt ttg atg ggg ttt		488
Cys Glu Gly Val Leu Val His Leu Phe Ser Gly Cys Leu Met Gly Phe		
	135 140 145	
ctt tgg att cag agt ggt tgg att gga cat gat gct ggg cat tat atg		536
Leu Trp Ile Gln Ser Gly Trp Ile Gly His Asp Ala Gly His Tyr Met		
	150 155 160 165	
gta gtg tct gat tca agg ctt aat aag ttt atg ggt att ttt gct gca		584
Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met Gly Ile Phe Ala Ala		
	170 175 180	
aat tgt ctt tca gga ata agt att ggt tgg tgg aaa tgg aac cat aat		632
Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn		
	185 190 195	

34

gca cat cac att gcc tgt aat agc ctt gaa tat gac cct gat tta caa	680
Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr Asp Pro Asp Leu Gln	
200 205 210	
tat ata cca ttc ctt gtt gtg tct tcc aag ttt ttt ggt tca ctc acc	728
Tyr Ile Pro Phe Leu Val Ser Ser Lys Phe Phe Gly Ser Leu Thr	
215 220 225	
tct cat ttc tat gag aaa agg ttg act ttt gac tct tta tca aga ttc	776
Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp Ser Leu Ser Arg Phe	
230 235 240 245	
ttt gta agt tat caa cat tgg aca ttt tac cct att atg tgt gct gct	824
Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro Ile Met Cys Ala Ala	
250 255 260	
agg ctc aat atg tat gta caa tct ctc ata atg ttg ttg acc aag aga	872
Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met Leu Leu Thr Lys Arg	
265 270 275	
aat gtg tcc tat cga gct cag gaa ctc ttg gga tgc cta gtg ttc tcg	920
Asn Val Ser Tyr Arg Ala Gln Glu Leu Leu Gly Cys Leu Val Phe Ser	
280 285 290	
att tgg tac ccg ttg ctt gtt tct tgt ttg cct aat tgg ggt gaa aga	968
Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg	
295 300 305	
att atg ttt gtt att gca agt tta tca gtg act gga atg caa caa gtt	1016
Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr Gly Met Gln Gln Val	
310 315 320 325	
cag ttc tcc ttg aac cac ttc tct tca agt gtt tat gtt gga aag cct	1064
Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Val Tyr Val Gly Lys Pro	
330 335 340	
aaa ggg aat aat tgg ttt gag aaa caa acg gat ggg aca ctt gac att	1112
Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp Gly Thr Leu Asp Ile	
345 350 355	
tct tgt cct cct tgg atg gat tgg ttt cat ggt gga ttg caa ttc caa	1160
Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln	
360 365 370	
att gag cat cat ttg ttt ccc aag atg cct aga tgc aac ctt agg aaa	1208
Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg Cys Asn Leu Arg Lys	
375 380 385	
atc tcg ccc tac gtg atc gag tta tgc aag aaa cat aat ttg cct tac	1256
Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr	
390 395 400 405	
aat tat gca tct ttc tcc aag gcc aat gaa atg aca ctc aga aca ttg	1304
Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met Thr Leu Arg Thr Leu	
410 415 420	

35

agg aac aca gca ttg cag gct agg gat ata acc aag ccg ctc ccg aag 1352
 Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr Lys Pro Leu Pro Lys
 425 430 435

aat ttg gta tgg gaa gct ctt cac act cat ggt taa aattaccctt 1398
 Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly
 440 445

agttcatgta ataatttgag attatgtatc tcctatgttt gtgtcttgtc ttggttctac 1458

ttgttgaggat cattgcaact tgtcttttat gggttattag atgtttttta atatatttta 1518

gaggttttgc tttcatctcc attattgatg aataaggagt tgcattattgt caattgttgt 1578

gtcfaatatc tgatattttg gaatgtactt tgtaccactg tgttttcagt tgaagctcat 1638

gtgtacttct atagactttg tttaaatggg tatgtcatgt tattt 1683

<210> 18

<211> 448

<212> PRT

<213> Borago officinalis

<400> 18

Met Ala Ala Gln Ile Lys Lys Tyr Ile Thr Ser Asp Glu Leu Lys Asn
 1 5 10 15

His Asp Lys Pro Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr
 20 25 30

Asp Val Ser Asp Trp Val Lys Asp His Pro Gly Gly Ser Phe Pro Leu
 35 40 45

Lys Ser Leu Ala Gly Gln Glu Val Thr Asp Ala Phe Val Ala Phe His
 50 55 60

Pro Ala Ser Thr Trp Lys Asn Leu Asp Lys Phe Phe Thr Gly Tyr Tyr
 65 70 75 80

Leu Lys Asp Tyr Ser Val Ser Glu Val Ser Lys Asp Tyr Arg Lys Leu
 85 90 95

Val Phe Glu Phe Ser Lys Met Gly Leu Tyr Asp Lys Lys Gly His Ile
 100 105 110

Met Phe Ala Thr Leu Cys Phe Ile Ala Met Leu Phe Ala Met Ser Val
 115 120 125

Tyr Gly Val Leu Phe Cys Glu Gly Val Leu Val His Leu Phe Ser Gly
 130 135 140

36

Cys Leu Met Gly Phe Leu Trp Ile Gln Ser Gly Trp Ile Gly His Asp
145 150 155 160

Ala Gly His Tyr Met Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met
165 170 175

Gly Ile Phe Ala Ala Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp
180 185 190

Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr
195 200 205

Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe
210 215 220

Phe Gly Ser Leu Thr Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp
225 230 235 240

Ser Leu Ser Arg Phe Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro
245 250 255

Ile Met Cys Ala Ala Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met
260 265 270

Leu Leu Thr Lys Arg Asn Val Ser Tyr Arg Ala Gln Glu Leu Leu Gly
275 280 285

Cys Leu Val Phe Ser Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro
290 295 300

Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr
305 310 315 320

Gly Met Gln Gln Val Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Ser Val
325 330 335

Tyr Val Gly Lys Pro Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp
340 345 350

Gly Thr Leu Asp Ile Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly
355 360 365

Gly Leu Gln Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg
370 375 380

Cys Asn Leu Arg Lys Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys
385 390 395 400

His Asn Leu Pro Tyr Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met
405 410 415

Thr Leu Arg Thr Leu Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr
420 425 430

Lys Pro Leu Pro Lys Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly
435 440 445

<210> 19

<211> 1563

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1563)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 19

atg gtg tcc cag ggc ggc ggt ctc tcg cag ggt tcc att gaa gaa aac	48
Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn	
1 5 10 15	
att gac gtt gag cac ttg gca acg atg ccc ctc gtc agt gac ttc cta	96
Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu	
20 25 30	
aat gtc ctg gga acg act ttg ggc cag tgg agt ctt tcc act aca ttc	144
Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe	
35 40 45	
gct ttc aag agg ctc acg act aag aaa cac agt tcg gac atc tcg gtg	192
Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val	
50 55 60	
gag gca caa aaa gaa tcg gtt gcg cgg ggg cca gtt gag aat att tct	240
Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser	
65 70 75 80	
caa tcg gtt gcg cag ccc atc agg cgg agg tgg gtg cag gat aaa aag	288
Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys	
85 90 95	
ccg gtt act tac agc ctg aag gat gta gct tcg cac gat atg ccc cag	336
Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln	
100 105 110	
gac tgc tgg att ata atc aaa gag aag gtg tat gat gtg agc acc ttc	384
Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe	
115 120 125	
gct gag cag cac cct gga ggc acg gtt atc aac acc tac ttc gga cga	432
Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg	
130 135 140	

38

gac gcc aca gat gtt ttc tct act ttc cac gca tcc acc tca tgg aag	480
Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys	
145 150 155 160	
att ctt cag aat ttc tac atc ggg aac ctt gtt agg gag gag ccg act	528
Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr	
165 170 175	
ttg gag ctg ctg aag gag tac aga gag ttg aga gcc ctt ttc ttg aga	576
Leu Glu Leu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg	
180 185 190	
gaa cag ctt ttc aag agt tcc aaa tcc tac tac ctt ttc aag act ctc	624
Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu	
195 200 205	
ata aat gtt tcc att gtt gcc aca agc att gcg ata atc agt ctg tac	672
Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr	
210 215 220	
aag tct tac cgg gcg gtt ctg tta tca gcc agt ttg atg ggc ttg ttt	720
Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe	
225 230 235 240	
att caa cag tgc gga tgg ttg tct cac gat ttt cta cac cat cag gta	768
Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val	
245 250 255	
ttt gag aca cgc tgg ctc aat gac gtt gtt ggc tat gtg gtc ggc aac	816
Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn	
260 265 270	
gtt gtt ctg gga ttc agt gtc tgc tgg tgg aag acc aag cac aac ctg	864
Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu	
275 280 285	
cat cat gct gct ccg aat gaa tgc gac caa aag tac aca ccg att gat	912
His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp	
290 295 300	
gag gat att gat act ctc ccc atc att gct tgg agt aaa gat ctc ttg	960
Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu	
305 310 315 320	
gcc act gtt gag agc aag acc atg ttg cga gtt ctt cag tac cag cac	1008
Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His	
325 330 335	
cta ttc ttt ttg gtt ctt ttg acg ttt gcc cgg gcg agt tgg cta ttt	1056
Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe	
340 345 350	
tgg agc gcg gcc ttc act ctc agg ccc gag ttg acc ctt ggc gag aag	1104
Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys	
355 360 365	

39

ctt ttg gag agg gga acg atg gct ttg cac tac att tgg ttt aat agt 1152
 Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser
 370 375 380

gtt gcg ttt tat ctg ctc ccc gga tgg aaa cca gtt gta tgg atg gtg 1200
 Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val
 385 390 395 400

gtc agc gag ctc atg tct ggt ttc ctg ctg gga tac gta ttt gta ctc 1248
 Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu
 405 410 415

agt cac aat gga atg gag gtg tac aat acg tca aag gac ttc gtg aat 1296
 Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn
 420 425 430

gcc cag att gca tcg act cgc gac atc aaa gca ggg gtg ttt aat gat 1344
 Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp
 435 440 445

tgg ttc acc gga ggt ctc aac aga cag att gag cat cat cta ttt cca 1392
 Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro
 450 455 460

acg atg ccc agg cac aac ctt aat aaa att tct cct cac gtg gag act 1440
 Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr
 465 470 475 480

ttg tgc aag aag cat gga ctg gtc tac gaa gac gtg agc atg gct tcg 1488
 Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser
 485 490 495

ggc act tac cgg gtt ttg aaa aca ctt aag gac gtt gcc gat gct gct 1536
 Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala
 500 505 510

tca cac cag cag ctt gct gcg agt tga 1563
 Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser
 515 520

<210> 20

<211> 520

<212> PRT

<213> Ceratodon purpureus

<400> 20

Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn
 1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu
 20 25 30

40

Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe
35 40 45

Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val
50 55 60

Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser
65 70 75 80

Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys
85 90 95

Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln
100 105 110

Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe
115 120 125

Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg
130 135 140

Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys
145 150 155 160

Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr
165 170 175

Leu Glu Leu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg
180 185 190

Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu
195 200 205

Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr
210 215 220

Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe
225 230 235 240

Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val
245 250 255

Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn
260 265 270

Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu
275 280 285

His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp
290 295 300

Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu
305 310 315 320

Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His
325 330 335

41

Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe
340 345 350

Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys
355 360 365

Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser
370 375 380

Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val
385 390 395 400

Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu
405 410 415

Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn
420 425 430

Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp
435 440 445

Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro
450 455 460

Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr
465 470 475 480

Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser
485 490 495

Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala
500 505 510

Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser
515 520

<210> 21

<211> 1434

<212> DNA

<213> *Phaeodactylum tricornutum*

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1434)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 21

42

atg ggc aaa gga ggg gac gct cgg gcc tcg aag ggc tca acg gcg gct	48
Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala	
1 5 10 15	
cgc aag atc agt tgg cag gaa gtc aag acc cac gcg tct ccg gag gac	96
Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp	
20 25 30	
gcc tgg atc att cac tcc aat aag gtc tac gac gtg tcc aac tgg cac	144
Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His	
35 40 45	
gaa cat ccc gga ggc gcc gtc att ttc acg cac gcc ggt gac gac atg	192
Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met	
50 55 60	
acg gac att ttc gct gcc ttt cac gca ccc gga tcg cag tcg ctc atg	240
Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met	
65 70 75 80	
aag aag ttc tac att ggc gaa ttg ctc ccg gaa acc acc ggc aag gag	288
Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu	
85 90 95	
ccg cag caa atc gcc ttt gaa aag ggc tac cgc gat ctg cgc tcc aaa	336
Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys	
100 105 110	
ctc atc atg atg ggc atg ttc aag tcc aac aag tgg ttc tac gtc tac	384
Leu Ile Met Met Gly Met Phe Lys Ser Asn Lys Trp Phe Tyr Val Tyr	
115 120 125	
aag tgc ctc agc aac atg gcc att tgg gcc gcc gcc tgt gct ctc gtc	432
Lys Cys Leu Ser Asn Met Ala Ile Trp Ala Ala Ala Cys Ala Leu Val	
130 135 140	
ttt tac tcg gac cgc ttc tgg gta cac ctg gcc agc gcc gtc atg ctg	480
Phe Tyr Ser Asp Arg Phe Trp Val His Leu Ala Ser Ala Val Met Leu	
145 150 155 160	
gga aca ttc ttt cag cag tcg gga tgg ttg gca cac gac ttt ctg cac	528
Gly Thr Phe Phe Gln Gln Ser Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His	
165 170 175	
cac cag gtc ttc acc aag cgc aag cac ggg gat ctc gga gga ctc ttt	576
His Gln Val Phe Thr Lys Arg Lys His Gly Asp Leu Gly Gly Leu Phe	
180 185 190	
tgg ggg aac ctc atg cag ggt tac tcc gta cag tgg tgg aaa aac aag	624
Trp Gly Asn Leu Met Gln Gly Tyr Ser Val Gln Trp Trp Lys Asn Lys	
195 200 205	
cac aac gga cac cac gcc gtc ccc aac ctc cac tgc tcc tcc gca gtc	672
His Asn Gly His His Ala Val Pro Asn Leu His Cys Ser Ser Ala Val	
210 215 220	

43

gcg	caa	gat	ggg	gac	ccg	gac	atc	gat	acc	atg	ccc	ctt	ctc	gcc	tgg	720
Ala	Gln	Asp	Gly	Asp	Pro	Asp	Ile	Asp	Thr	Met	Pro	Leu	Leu	Ala	Trp	
225					230				235						240	
tcc	gtc	cag	caa	gcc	cag	tct	tac	cgg	gaa	ctc	caa	gcc	gac	gga	aag	768
Ser	Val	Gln	Gln	Ala	Gln	Ser	Tyr	Arg	Glu	Leu	Gln	Ala	Asp	Gly	Lys	
				245					250						255	
gat	tcg	ggt	ttg	gtc	aag	ttc	atg	atc	cgt	aac	caa	tcc	tac	ttt	tac	816
Asp	Ser	Gly	Leu	Val	Lys	Phe	Met	Ile	Arg	Asn	Gln	Ser	Tyr	Phe	Tyr	
			260					265						270		
ttt	ccc	atc	ttg	ttg	ctc	gcc	cgc	ctg	tcg	tgg	ttg	aac	gag	tcc	ttc	864
Phe	Pro	Ile	Leu	Leu	Leu	Ala	Arg	Leu	Ser	Trp	Leu	Asn	Glu	Ser	Phe	
			275				280						285			
aag	tgc	gcc	ttt	ggg	ctt	gga	gct	gcg	tcg	gag	aac	gct	gct	ctc	gaa	912
Lys	Cys	Ala	Phe	Gly	Leu	Gly	Ala	Ala	Ser	Glu	Asn	Ala	Ala	Leu	Glu	
	290					295					300					
ctc	aag	gcc	aag	ggt	ctt	cag	tac	ccc	ctt	ttg	gaa	aag	gct	ggc	atc	960
Leu	Lys	Ala	Lys	Gly	Leu	Gln	Tyr	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ala	Gly	Ile	
305					310					315					320	
ctg	ctg	cac	tac	gct	tgg	atg	ctt	aca	ggt	tcg	tcc	ggc	ttt	gga	cgc	1008
Leu	Leu	His	Tyr	Ala	Trp	Met	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Phe	Gly	Arg	
				325					330					335		
ttc	tcg	ttc	gcg	tac	acc	gca	ttt	tac	ttt	cta	acc	gcg	acc	gcg	tcc	1056
Phe	Ser	Phe	Ala	Tyr	Thr	Ala	Phe	Tyr	Phe	Leu	Thr	Ala	Thr	Ala	Ser	
			340					345					350			
tgt	gga	ttc	ttg	ctc	gcc	att	gtc	ttt	ggc	ctc	ggc	cac	aac	ggc	atg	1104
Cys	Gly	Phe	Leu	Leu	Ala	Ile	Val	Phe	Gly	Leu	Gly	His	Asn	Gly	Met	
		355					360					365				
gcc	acc	tac	aat	gcc	gac	gcc	cgt	ccg	gac	ttc	tgg	aag	ctc	caa	gtc	1152
Ala	Thr	Tyr	Asn	Ala	Asp	Ala	Arg	Pro	Asp	Phe	Trp	Lys	Leu	Gln	Val	
	370					375					380					
acc	acg	act	cgc	aac	gtc	acg	ggc	gga	cac	ggt	ttc	ccc	caa	gcc	ttt	1200
Thr	Thr	Thr	Arg	Asn	Val	Thr	Gly	Gly	His	Gly	Phe	Pro	Gln	Ala	Phe	
385					390					395					400	
gtc	gac	tgg	ttc	tgt	ggt	ggc	ctc	cag	tac	caa	gtc	gac	cac	cac	tta	1248
Val	Asp	Trp	Phe	Cys	Gly	Gly	Leu	Gln	Tyr	Gln	Val	Asp	His	His	Leu	
				405					410						415	
ttc	ccc	agc	ctg	ccc	cga	cac	aat	ctg	gcc	aag	aca	cac	gca	ctg	gtc	1296
Phe	Pro	Ser	Leu	Pro	Arg	His	Asn	Leu	Ala	Lys	Thr	His	Ala	Leu	Val	
			420					425					430			
gaa	tcg	ttc	tgc	aag	gag	tgg	ggt	gtc	cag	tac	cac	gaa	gcc	gac	ctt	1344
Glu	Ser	Phe	Cys	Lys	Glu	Trp	Gly	Val	Gln	Tyr	His	Glu	Ala	Asp	Leu	
			435				440						445			

44

gtg gac ggg acc atg gaa gtc ttg cac cat ttg ggc agc gtg gcc ggc 1392
 Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly
 450 455 460

gaa ttc gtc gtg gat ttt gta cgc gat gga ccc gcc atg taa 1434
 Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met
 465 470 475

<210> 22

<211> 477

<212> PRT

<213> Phaeodactylum tricornutum

<400> 22

Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala
 1 5 10 15

Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp
 20 25 30

Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His
 35 40 45

Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met
 50 55 60

Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met
 65 70 75 80

Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu
 85 90 95

Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys
 100 105 110

Leu Ile Met Met Gly Met Phe Lys Ser Asn Lys Trp Phe Tyr Val Tyr
 115 120 125

Lys Cys Leu Ser Asn Met Ala Ile Trp Ala Ala Ala Cys Ala Leu Val
 130 135 140

Phe Tyr Ser Asp Arg Phe Trp Val His Leu Ala Ser Ala Val Met Leu
 145 150 155 160

Gly Thr Phe Phe Gln Gln Ser Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His
 165 170 175

His Gln Val Phe Thr Lys Arg Lys His Gly Asp Leu Gly Gly Leu Phe
 180 185 190

Trp Gly Asn Leu Met Gln Gly Tyr Ser Val Gln Trp Trp Lys Asn Lys
 195 200 205

45

His Asn Gly His His Ala Val Pro Asn Leu His Cys Ser Ser Ala Val
210 215 220

Ala Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp
225 230 235 240

Ser Val Gln Gln Ala Gln Ser Tyr Arg Glu Leu Gln Ala Asp Gly Lys
245 250 255

Asp Ser Gly Leu Val Lys Phe Met Ile Arg Asn Gln Ser Tyr Phe Tyr
260 265 270

Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe
275 280 285

Lys Cys Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala Ser Glu Asn Ala Ala Leu Glu
290 295 300

Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile
305 310 315 320

Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg
325 330 335

Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser
340 345 350

Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met
355 360 365

Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val
370 375 380

Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe
385 390 395 400

Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu
405 410 415

Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val
420 425 430

Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu
435 440 445

Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly
450 455 460

Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met
465 470 475

<210> 23

<211> 1578

46

<212> DNA

<213> Physcomitrella patens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1578)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 23

atg gta ttc gcg ggc ggt gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac	48
Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn	
1 5 10 15	
atc gac gtc gag cac att gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc	96
Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe	
20 25 30	
agt tat gtg tct tca act gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa	144
Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln	
35 40 45	
cct ttg aag cgc ctg acg agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc	192
Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala	
50 55 60	
gtg caa tgt ata tca gct gaa gtt cag aga aat tcg agt acc cag gga	240
Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly	
65 70 75 80	
act gcg gag gca ctc gca gaa tca gtc gtg aag ccc acg aga cga agg	288
Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg	
85 90 95	
tca tct cag tgg aag aag tcg aca cac ccc cta tca gaa gta gca gta	336
Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val	
100 105 110	
cac aac aag cca agc gat tgc tgg att gtt gta aaa aac aag gtg tat	384
His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr	
115 120 125	
gat gtt tcc aat ttt gcg gac gag cat ccc gga gga tca gtt att agt	432
Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser	
130 135 140	
act tat ttt gga cga gac ggc aca gat gtt ttc tct agt ttt cat gca	480
Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala	
145 150 155 160	

47

gct tct aca tgg aaa att ctt caa gac ttt tac att ggt gac gtg gag Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 165 170 175	528
agg gtg gag ccg act cca gag ctg ctg aaa gat ttc cga gaa atg aga Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 180 185 190	576
gct ctt ttc ctg agg gag caa ctt ttc aaa agt tcg aaa ttg tac tat Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr 195 200 205	624
gtt atg aag ctg ctc acg aat gtt gct att ttt gct gcg agc att gca Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala 210 215 220	672
ata ata tgt tgg agc aag act att tca gcg gtt ttg gct tca gct tgt Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys 225 230 235 240	720
atg atg gct ctg tgt ttc caa cag tgc gga tgg cta tcc cat gat ttt Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe 245 250 255	768
ctc cac aat cag gtg ttt gag aca cgc tgg ctt aat gaa gtt gtc ggg Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly 260 265 270	816
tat gtg atc ggc aac gcc gtt ctg ggg ttt agt aca ggg tgg tgg aag Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys 275 280 285	864
gag aag cat aac ctt cat cat gct gct cca aat gaa tgc gat cag act Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr 290 295 300	912
tac caa cca att gat gaa gat att gat act ctc ccc ctc att gcc tgg Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp 305 310 315 320	960
agc aag gac ata ctg gcc aca gtt gag aat aag aca ttc ttg cga atc Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile 325 330 335	1008
ctc caa tac cag cat ctg ttc ttc atg ggt ctg tta ttt ttc gcc cgt Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg 340 345 350	1056
ggg agt tgg ctc ttt tgg agc tgg aga tat acc tct aca gca gtg ctc Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu 355 360 365	1104
tca cct gtc gac agg ttg ttg gag aag gga act gtt ctg ttt cac tac Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr 370 375 380	1152

48

ttt tgg ttc gtc ggg aca gcg tgc tat ctt ctc cct ggt tgg aag cca 1200
 Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro
 385 390 395 400

tta gta tgg atg gcg gtg act gag ctc atg tcc ggc atg ctg ctg ggc 1248
 Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly
 405 410 415

ttt gta ttt gta ctt agc cac aat ggg atg gag gtt tat aat tcg tct 1296
 Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser
 420 425 430

aaa gaa ttc gtg agt gca cag atc gta tcc aca cgg gat atc aaa gga 1344
 Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly
 435 440 445

aac ata ttc aac gac tgg ttc act ggt ggc ctt aac agg caa ata gag 1392
 Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu
 450 455 460

cat cat ctt ttc cca aca atg ccc agg cat aat tta aac aaa ata gca 1440
 His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala
 465 470 475 480

cct aga gtg gag gtg ttc tgt aag aaa cac ggt ctg gtg tac gaa gac 1488
 Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp
 485 490 495

gta tct att gct acc ggc act tgc aag gtt ttg aaa gca ttg aag gaa 1536
 Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu
 500 505 510

gtc gcg gag gct gcg gca gag cag cat gct acc acc agt taa 1578
 Val Ala Glu Ala Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser
 515 520 525

<210> 24

<211> 525

<212> PRT

<213> Physcomitrella patens

<400> 24

Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn
 1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe
 20 25 30

Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln
 35 40 45

49

Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala
 50 55 60
 Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly
 65 70 75 80
 Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg
 85 90 95
 Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val
 100 105 110
 His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr
 115 120 125
 Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser
 130 135 140
 Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala
 145 150 155 160
 Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu
 165 170 175
 Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg
 180 185 190
 Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr
 195 200 205
 Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala
 210 215 220
 Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys
 225 230 235 240
 Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe
 245 250 255
 Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly
 260 265 270
 Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys
 275 280 285
 Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr
 290 295 300
 Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp
 305 310 315 320
 Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile
 325 330 335
 Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg
 340 345 350

50

Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu
355 360 365

Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr
370 375 380

Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro
385 390 395 400

Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly
405 410 415

Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser
420 425 430

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly
435 440 445

Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu
450 455 460

His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala
465 470 475 480

Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp
485 490 495

Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu
500 505 510

Val Ala Glu Ala Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser
515 520 525

<210> 25

<211> 1332

<212> DNA

<213> Caenorhabditis elegans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1332)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 25

atg gtc gtc gac aag aat gcc tcc ggg ctt cga atg aag gtc gat ggc
Met Val Val Asp Lys Asn Ala Ser Gly Leu Arg Met Lys Val Asp Gly
1 5 10 15

51

aaa tgg ctc tac ctt agc gag gaa ttg gtg aag aaa cat cca gga gga Lys Trp Leu Tyr Leu Ser Glu Glu Leu Val Lys Lys His Pro Gly Gly 20 25 30	96
gct gtt att gaa caa tat aga aat tgc gat gct act cat att ttc cac Ala Val Ile Glu Gln Tyr Arg Asn Ser Asp Ala Thr His Ile Phe His 35 40 45	144
gct ttc cac gaa gga tct tct cag gct tat aag caa ctt gac ctt ctg Ala Phe His Glu Gly Ser Ser Gln Ala Tyr Lys Gln Leu Asp Leu Leu 50 55 60	192
aaa aag cac gga gag cac gat gaa ttc ctt gag aaa caa ttg gaa aag Lys Lys His Gly Glu His Asp Glu Phe Leu Glu Lys Gln Leu Glu Lys 65 70 75 80	240
aga ctt gac aaa gtt gat atc aat gta tca gca tat gat gtc agt gtt Arg Leu Asp Lys Val Asp Ile Asn Val Ser Ala Tyr Asp Val Ser Val 85 90 95	288
gca caa gaa aag aaa atg gtt gaa tca ttc gaa aaa cta cga cag aag Ala Gln Glu Lys Lys Met Val Glu Ser Phe Glu Lys Leu Arg Gln Lys 100 105 110	336
ctt cat gat gat gga tta atg aaa gca aat gaa aca tat ttc ctg ttt Leu His Asp Asp Gly Leu Met Lys Ala Asn Glu Thr Tyr Phe Leu Phe 115 120 125	384
aaa gcg att tca aca ctt tca att atg gca ttt gca ttt tat ctt cag Lys Ala Ile Ser Thr Leu Ser Ile Met Ala Phe Ala Phe Tyr Leu Gln 130 135 140	432
tat ctt gga tgg tat att act tct gca tgt tta tta gca ctt gca tgg Tyr Leu Gly Trp Tyr Ile Thr Ser Ala Cys Leu Leu Ala Leu Ala Trp 145 150 155 160	480
caa caa ttc gga tgg tta aca cat gag ttc tgc cat caa cag cca aca Gln Gln Phe Gly Trp Leu Thr His Glu Phe Cys His Gln Gln Pro Thr 165 170 175	528
aag aac aga cct ttg aat gat act att tct ttg ttc ttt ggt aat ttc Lys Asn Arg Pro Leu Asn Asp Thr Ile Ser Leu Phe Phe Gly Asn Phe 180 185 190	576
tta caa gga ttt tca aga gat tgg tgg aag gac aag cat aac act cat Leu Gln Gly Phe Ser Arg Asp Trp Trp Lys Asp Lys His Asn Thr His 195 200 205	624
cac gct gcc aca aat gta att gat cat gac ggt gat atc gac ttg gca His Ala Ala Thr Asn Val Ile Asp His Asp Gly Asp Ile Asp Leu Ala 210 215 220	672
cca ctt ttc gca ttt att cca gga gat ttg tgc aag tat aag gcc agc Pro Leu Phe Ala Phe Ile Pro Gly Asp Leu Cys Lys Tyr Lys Ala Ser 225 230 235 240	720

52

ttt gaa aaa gca att ctc aag att gta cca tat caa cat ctc tat ttc Phe Glu Lys Ala Ile Leu Lys Ile Val Pro Tyr Gln His Leu Tyr Phe 245 250 255	768
acc gca atg ctt cca atg ctc cgt ttc tca tgg act ggt cag tca gtt Thr Ala Met Leu Pro Met Leu Arg Phe Ser Trp Thr Gly Gln Ser Val 260 265 270	816
caa tgg gta ttc aaa gag aat caa atg gag tac aag gtc tat caa aga Gln Trp Val Phe Lys Glu Asn Gln Met Glu Tyr Lys Val Tyr Gln Arg 275 280 285	864
aat gca ttc tgg gag caa gca aca att gtt gga cat tgg gct tgg gta Asn Ala Phe Trp Glu Gln Ala Thr Ile Val Gly His Trp Ala Trp Val 290 295 300	912
ttc tat caa ttg ttc tta tta cca aca tgg cca ctt cgg gtt gct tat Phe Tyr Gln Leu Phe Leu Leu Pro Thr Trp Pro Leu Arg Val Ala Tyr 305 310 315 320	960
ttc att att tca caa atg gga gga ggc ctt ttg att gct cac gta gtc Phe Ile Ile Ser Gln Met Gly Gly Gly Leu Leu Ile Ala His Val Val 325 330 335	1008
act ttc aac cat aac tct gtt gat aag tat cca gcc aat tct cga att Thr Phe Asn His Asn Ser Val Asp Lys Tyr Pro Ala Asn Ser Arg Ile 340 345 350	1056
tta aac aac ttc gcc gct ctt caa att ttg acc aca cgc aac atg act Leu Asn Asn Phe Ala Ala Leu Gln Ile Leu Thr Thr Arg Asn Met Thr 355 360 365	1104
cca tct cca ttc att gat tgg ctt tgg ggt gga ctc aat tat cag atc Pro Ser Pro Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile 370 375 380	1152
gag cac cac ttg ttc cca aca atg cca cgt tgc aat ctg aat gct tgc Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg Cys Asn Leu Asn Ala Cys 385 390 395 400	1200
gtg aaa tat gtg aaa gaa tgg tgc aaa gag aat aat ctt cct tac ctc Val Lys Tyr Val Lys Glu Trp Cys Lys Glu Asn Asn Leu Pro Tyr Leu 405 410 415	1248
gtc gat gac tac ttt gac gga tat gca atg aat ttg caa caa ttg aaa Val Asp Asp Tyr Phe Asp Gly Tyr Ala Met Asn Leu Gln Gln Leu Lys 420 425 430	1296
aat atg gct gag cac att caa gct aaa gct gcc taa Asn Met Ala Glu His Ile Gln Ala Lys Ala Ala 435 440	1332

<210> 26

<211> 443

53

<212> PRT

<213> Caenorhabditis elegans

<400> 26

Met Val Val Asp Lys Asn Ala Ser Gly Leu Arg Met Lys Val Asp Gly
1 5 10 15

Lys Trp Leu Tyr Leu Ser Glu Glu Leu Val Lys Lys His Pro Gly Gly
20 25 30

Ala Val Ile Glu Gln Tyr Arg Asn Ser Asp Ala Thr His Ile Phe His
35 40 45

Ala Phe His Glu Gly Ser Ser Gln Ala Tyr Lys Gln Leu Asp Leu Leu
50 55 60

Lys Lys His Gly Glu His Asp Glu Phe Leu Glu Lys Gln Leu Glu Lys
65 70 75 80

Arg Leu Asp Lys Val Asp Ile Asn Val Ser Ala Tyr Asp Val Ser Val
85 90 95

Ala Gln Glu Lys Lys Met Val Glu Ser Phe Glu Lys Leu Arg Gln Lys
100 105 110

Leu His Asp Asp Gly Leu Met Lys Ala Asn Glu Thr Tyr Phe Leu Phe
115 120 125

Lys Ala Ile Ser Thr Leu Ser Ile Met Ala Phe Ala Phe Tyr Leu Gln
130 135 140

Tyr Leu Gly Trp Tyr Ile Thr Ser Ala Cys Leu Leu Ala Leu Ala Trp
145 150 155 160

Gln Gln Phe Gly Trp Leu Thr His Glu Phe Cys His Gln Gln Pro Thr
165 170 175

Lys Asn Arg Pro Leu Asn Asp Thr Ile Ser Leu Phe Phe Gly Asn Phe
180 185 190

Leu Gln Gly Phe Ser Arg Asp Trp Trp Lys Asp Lys His Asn Thr His
195 200 205

His Ala Ala Thr Asn Val Ile Asp His Asp Gly Asp Ile Asp Leu Ala
210 215 220

Pro Leu Phe Ala Phe Ile Pro Gly Asp Leu Cys Lys Tyr Lys Ala Ser
225 230 235 240

Phe Glu Lys Ala Ile Leu Lys Ile Val Pro Tyr Gln His Leu Tyr Phe
245 250 255

Thr Ala Met Leu Pro Met Leu Arg Phe Ser Trp Thr Gly Gln Ser Val
260 265 270

54

Gln Trp Val Phe Lys Glu Asn Gln Met Glu Tyr Lys Val Tyr Gln Arg
275 280 285

Asn Ala Phe Trp Glu Gln Ala Thr Ile Val Gly His Trp Ala Trp Val
290 295 300

Phe Tyr Gln Leu Phe Leu Leu Pro Thr Trp Pro Leu Arg Val Ala Tyr
305 310 315 320

Phe Ile Ile Ser Gln Met Gly Gly Gly Leu Leu Ile Ala His Val Val
325 330 335

Thr Phe Asn His Asn Ser Val Asp Lys Tyr Pro Ala Asn Ser Arg Ile
340 345 350

Leu Asn Asn Phe Ala Ala Leu Gln Ile Leu Thr Thr Arg Asn Met Thr
355 360 365

Pro Ser Pro Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile
370 375 380

Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg Cys Asn Leu Asn Ala Cys
385 390 395 400

Val Lys Tyr Val Lys Glu Trp Cys Lys Glu Asn Asn Leu Pro Tyr Leu
405 410 415

Val Asp Asp Tyr Phe Asp Gly Tyr Ala Met Asn Leu Gln Gln Leu Lys
420 425 430

Asn Met Ala Glu His Ile Gln Ala Lys Ala Ala
435 440

<210> 27

<211> 873

<212> DNA

<213> Physcomitrella patens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(873)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 27

atg gag gtc gtg gag aga ttc tac ggt gag ttg gat ggg aag gtc tcg
Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser
1 5 10 15

55

cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt ggg gtg gag ttg acg gat	96
Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp	
20 25 30	
acg ccc act acc aaa ggc ttg ccc ctc gtt gac agt ccc aca ccc atc	144
Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile	
35 40 45	
gtc ctc ggt gtt tct gta tac ttg act att gtc att gga ggg ctt ttg	192
Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu	
50 55 60	
tgg ata aag gcc agg gat ctg aaa ccg cgc gcc tcg gag cca ttt ttg	240
Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu	
65 70 75 80	
ctc caa gct ttg gtg ctt gtg cac aac ctg ttc tgt ttt gcg ctc agt	288
Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser	
85 90 95	
ctg tat atg tgc gtg ggc atc gct tat cag gct att acc tgg cgg tac	336
Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr	
100 105 110	
tct ctc tgg ggc aat gca tac aat cct aaa cat aaa gag atg gcg att	384
Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile	
115 120 125	
ctg gta tac ttg ttc tac atg tct aag tac gtg gaa ttc atg gat acc	432
Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr	
130 135 140	
gtt atc atg ata ctg aag cgc agc acc agg caa ata agc ttc ctc cac	480
Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His	
145 150 155 160	
gtt tat cat cat tct tca att tcc ctc att tgg tgg gct att gct cat	528
Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His	
165 170 175	
cac gct cct ggc ggt gaa gca tat tgg tct gcg gct ctg aac tca gga	576
His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly	
180 185 190	
gtg cat gtt ctc atg tat gcg tat tac ttc ttg gct gcc tgc ctt cga	624
Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg	
195 200 205	
agt agc cca aag tta aaa aat aag tac ctt ttt tgg ggc agg tac ttg	672
Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu	
210 215 220	
aca caa ttc caa atg ttc cag ttt atg ctg aac tta gtg cag gct tac	720
Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr	
225 230 235 240	

56

tac gac atg aaa acg aat gcg cca tat cca caa tgg ctg atc aag att 768
 Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile
 245 250 255

ttg ttc tac tac atg atc tcg ttg ctg ttt ctt ttc ggc aat ttt tac 816
 Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr
 260 265 270

gta caa aaa tac atc aaa ccc tct gac gga aag caa aag gga gct aaa 864
 Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys
 275 280 285

act gag tga 873
 Thr Glu
 290

<210> 28

<211> 290

<212> PRT

<213> Physcomitrella patens

<400> 28

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser
 1 5 10 15

Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp
 20 25 30

Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile
 35 40 45

Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu
 50 55 60

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu
 65 70 75 80

Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser
 85 90 95

Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr
 100 105 110

Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile
 115 120 125

Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr
 130 135 140

Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His
 145 150 155 160

57

Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His
165 170 175

His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly
180 185 190

Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg
195 200 205

Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu
210 215 220

Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr
225 230 235 240

Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile
245 250 255

Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr
260 265 270

Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys
275 280 285

Thr Glu
290

<210> 29

<211> 1049

<212> DNA

<213> Thraustochytrium

<220>

<221> CDS

<222> (43)..(858)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 29

gaattcggca cgagagcgcg cggagcggag acctcggccg cg atg atg gag ccg 54
Met Met Glu Pro
1

ctc gac agg tac agg gcg ctg gcg gag ctc gcc gcg agg tac gcc agc 102
Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala Arg Tyr Ala Ser
5 10 15 20

tgg gcg gcc ttc aag tgg caa gtc acg tac gac gcc aag gac agc ttc 150
Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala Lys Asp Ser Phe
25 30 35

58

gtc ggg ccc ctg gga atc cgg gag ccg ctc ggg ctc ctg gtg ggc tcc	198
Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu Leu Val Gly Ser	
40 45 50	
gtg gtc ctc tac ctg agc ctg ctg gcc gtg gtc tac gcg ctg cgg aac	246
Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr Ala Leu Arg Asn	
55 60 65	
tac ctt ggc ggc ctc atg gcg ctc cgc agc gtg cat aac ctc ggg ctc	294
Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His Asn Leu Gly Leu	
70 75 80	
tgc ctc ttc tcg ggc gcc gtg tgg atc tac acg agc tac ctc atg atc	342
Cys Leu Phe Ser Gly Ala Val Trp Ile Tyr Thr Ser Tyr Leu Met Ile	
85 90 95 100	
cag gat ggg cac ttt cgc agc ctc gag gcg gca acg tgc gag ccg ctc	390
Gln Asp Gly His Phe Arg Ser Leu Glu Ala Ala Thr Cys Glu Pro Leu	
105 110 115	
aag cat ccg cac ttc cag ctc atc agc ttg ctc ttt gcg ctg tcc aag	438
Lys His Pro His Phe Gln Leu Ile Ser Leu Leu Phe Ala Leu Ser Lys	
120 125 130	
atc tgg gag tgg ttc gac acg gtg ctc ctc atc gtc aag ggc aac aag	486
Ile Trp Glu Trp Phe Asp Thr Val Leu Leu Ile Val Lys Gly Asn Lys	
135 140 145	
ctc cgc ttc ctg cac gtc ttg cac cac gcc acg acc ttt tgg ctc tac	534
Leu Arg Phe Leu His Val Leu His His Ala Thr Thr Phe Trp Leu Tyr	
150 155 160	
gcc atc gac cac atc ttt ctc tcg tcc atc aag tac ggc gtc gcg gtc	582
Ala Ile Asp His Ile Phe Leu Ser Ser Ile Lys Tyr Gly Val Ala Val	
165 170 175 180	
aat gct ttc atc cac acc gtc atg tac gcg cac tac ttc cgc cca ttc	630
Asn Ala Phe Ile His Thr Val Met Tyr Ala His Tyr Phe Arg Pro Phe	
185 190 195	
ccg aag ggc ttg cgc ccg ctt att acg cag ttg cag atc gtc cag ttc	678
Pro Lys Gly Leu Arg Pro Leu Ile Thr Gln Leu Gln Ile Val Gln Phe	
200 205 210	
att ttc agc atc ggc atc cat acc gcc att tac tgg cac tac gac tgc	726
Ile Phe Ser Ile Gly Ile His Thr Ala Ile Tyr Trp His Tyr Asp Cys	
215 220 225	
gag ccg ctc gtg cat acc cac ttt tgg gaa tac gtc acg ccc tac ctt	774
Glu Pro Leu Val His Thr His Phe Trp Glu Tyr Val Thr Pro Tyr Leu	
230 235 240	
ttc gtc gtg ccc ttc ctc atc ctc ttt ttc aat ttt tac ctg cag cag	822
Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe Tyr Leu Gln Gln	
245 250 255 260	

59

tac gtc ctc gcg ccc gca aaa acc aag aag gca tag ccacgtaaca 868
 Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala
 265 270

gtagaccagc agcgccgagg acgcgtgccg cgttatcgcg aagcacgaaa taaagaagat 928

catttgattc aacgaggcta cttgcggcca cgagaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 988

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1048

c 1049

<210> 30

<211> 271

<212> PRT

<213> Thraustochytrium

<400> 30

Met Met Glu Pro Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala
 1 5 10 15

Arg Tyr Ala Ser Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala
 20 25 30

Lys Asp Ser Phe Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu
 35 40 45

Leu Val Gly Ser Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr
 50 55 60

Ala Leu Arg Asn Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His
 65 70 75 80

Asn Leu Gly Leu Cys Leu Phe Ser Gly Ala Val Trp Ile Tyr Thr Ser
 85 90 95

Tyr Leu Met Ile Gln Asp Gly His Phe Arg Ser Leu Glu Ala Ala Thr
 100 105 110

Cys Glu Pro Leu Lys His Pro His Phe Gln Leu Ile Ser Leu Leu Phe
 115 120 125

Ala Leu Ser Lys Ile Trp Glu Trp Phe Asp Thr Val Leu Leu Ile Val
 130 135 140

Lys Gly Asn Lys Leu Arg Phe Leu His Val Leu His His Ala Thr Thr
 145 150 155 160

Phe Trp Leu Tyr Ala Ile Asp His Ile Phe Leu Ser Ser Ile Lys Tyr
 165 170 175

60

Gly Val Ala Val Asn Ala Phe Ile His Thr Val Met Tyr Ala His Tyr
 180 185 190

Phe Arg Pro Phe Pro Lys Gly Leu Arg Pro Leu Ile Thr Gln Leu Gln
 195 200 205

Ile Val Gln Phe Ile Phe Ser Ile Gly Ile His Thr Ala Ile Tyr Trp
 210 215 220

His Tyr Asp Cys Glu Pro Leu Val His Thr His Phe Trp Glu Tyr Val
 225 230 235 240

Thr Pro Tyr Leu Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe
 245 250 255

Tyr Leu Gln Gln Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala
 260 265 270

<210> 31

<211> 837

<212> DNA

<213> Phytophthora infestans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(837)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 31

atg tcg act gag cta ctg cag agc tac tac gcg tgg gcc aac gcc acg 48
 Met Ser Thr Glu Leu Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Trp Ala Asn Ala Thr
 1 5 10 15

gag gcc aag ctg ctg gac tgg gtc gac cct gag ggc ggc tgg aag gtg 96
 Glu Ala Lys Leu Leu Asp Trp Val Asp Pro Glu Gly Gly Trp Lys Val
 20 25 30

cat cct atg gca gac tac ccc cta gcc aac ttc tcc agc gtc tac gcc 144
 His Pro Met Ala Asp Tyr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Ser Val Tyr Ala
 35 40 45

atc tgc gtc gga tac ttg ctc ttc gta atc ttc ggc acg gcc ctg atg 192
 Ile Cys Val Gly Tyr Leu Leu Phe Val Ile Phe Gly Thr Ala Leu Met
 50 55 60

aaa atg gga gtc ccc gcc atc aag acc agt cca tta cag ttt gtg tac 240
 Lys Met Gly Val Pro Ala Ile Lys Thr Ser Pro Leu Gln Phe Val Tyr
 65 70 75 80

61

aac ccc atc caa gtc att gcc tgc tct tat atg tgc gtg gag gcc gcc 288
 Asn Pro Ile Gln Val Ile Ala Cys Ser Tyr Met Cys Val Glu Ala Ala
 85 90 95

atc cag gcc tac cgc aac ggc tac acc gcc gcc ccg tgc aac gcc ttt 336
 Ile Gln Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Ala Ala Pro Cys Asn Ala Phe
 100 105 110

aag tcc gac gac ccc gtc atg ggc aac gtt ctg tac ctc ttc tat ctc 384
 Lys Ser Asp Asp Pro Val Met Gly Asn Val Leu Tyr Leu Phe Tyr Leu
 115 120 125

tcc aag atg ctc gac ctg tgc gac aca gtc ttc att atc cta gga aag 432
 Ser Lys Met Leu Asp Leu Cys Asp Thr Val Phe Ile Ile Leu Gly Lys
 130 135 140

aag tgg aaa cag ctt tcc atc ttg cac gtg tac cac cac ctt acc gtg 480
 Lys Trp Lys Gln Leu Ser Ile Leu His Val Tyr His His Leu Thr Val
 145 150 155 160

ctt ttc gtc tac tat gtg acg ttc cgc gcc gct cag gac ggg gac tca 528
 Leu Phe Val Tyr Tyr Val Thr Phe Arg Ala Ala Gln Asp Gly Asp Ser
 165 170 175

tat gct acc atc gtg ctc aac ggc ttc gtg cac acc atc atg tac act 576
 Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr
 180 185 190

tac tac ttc gtc agc gcc cac acg cgc aac att tgg tgg aag aag tac 624
 Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr
 195 200 205

ctc acg cgc att cag ctt atc cag ttc gtg acc atg aac gtg cag ggc 672
 Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly
 210 215 220

tac ctg acc tac tct cga cag tgc cca ggc atg cct cct aag gtg ccg 720
 Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro
 225 230 235 240

ctc atg tac ctt gtg tac gtg cag tca ctc ttc tgg ctc ttc atg aat 768
 Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn
 245 250 255

ttc tac att cgc gcg tac gtg ttc ggc ccc aag aaa ccg gcc gtg gag 816
 Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu
 260 265 270

gaa tcg aag aag aag ttg taa 837
 Glu Ser Lys Lys Lys Leu
 275

<210> 32

<211> 278

62

<212> PRT

<213> Phytophthora infestans

<400> 32

Met Ser Thr Glu Leu Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Trp Ala Asn Ala Thr
1 5 10 15

Glu Ala Lys Leu Leu Asp Trp Val Asp Pro Glu Gly Gly Trp Lys Val
20 25 30

His Pro Met Ala Asp Tyr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Ser Val Tyr Ala
35 40 45

Ile Cys Val Gly Tyr Leu Leu Phe Val Ile Phe Gly Thr Ala Leu Met
50 55 60

Lys Met Gly Val Pro Ala Ile Lys Thr Ser Pro Leu Gln Phe Val Tyr
65 70 75 80

Asn Pro Ile Gln Val Ile Ala Cys Ser Tyr Met Cys Val Glu Ala Ala
85 90 95

Ile Gln Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Ala Ala Pro Cys Asn Ala Phe
100 105 110

Lys Ser Asp Asp Pro Val Met Gly Asn Val Leu Tyr Leu Phe Tyr Leu
115 120 125

Ser Lys Met Leu Asp Leu Cys Asp Thr Val Phe Ile Ile Leu Gly Lys
130 135 140

Lys Trp Lys Gln Leu Ser Ile Leu His Val Tyr His His Leu Thr Val
145 150 155 160

Leu Phe Val Tyr Tyr Val Thr Phe Arg Ala Ala Gln Asp Gly Asp Ser
165 170 175

Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr
180 185 190

Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr
195 200 205

Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly
210 215 220

Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro
225 230 235 240

Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn
245 250 255

Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu
260 265 270

Glu Ser Lys Lys Lys Leu
275

<210> 33

<211> 954

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(954)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 33

atg gcc gcc gca atc ttg gac aag gtc aac ttc ggc att gat cag ccc	48
Met Ala Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro	
1 5 10 15	

ttc gga atc aag ctc gac acc tac ttt gct cag gcc tat gaa ctc gtc	96
Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val	
20 25 30	

acc gga aag tcc atc gac tcc ttc gtc ttc cag gag ggc gtc acg cct	144
Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro	
35 40 45	

ctc tcg acc cag aga gag gtc gcc atg tgg act atc act tac ttc gtc	192
Leu Ser Thr Gln Arg Glu Val Ala Met Trp Thr Ile Thr Tyr Phe Val	
50 55 60	

gtc atc ttt ggt ggt cgc cag atc atg aag agc cag gac gcc ttc aag	240
Val Ile Phe Gly Gly Arg Gln Ile Met Lys Ser Gln Asp Ala Phe Lys	
65 70 75 80	

ctc aag ccc ctc ttc atc ctc cac aac ttc ctc ctg acg atc gcg tcc	288
Leu Lys Pro Leu Phe Ile Leu His Asn Phe Leu Leu Thr Ile Ala Ser	
85 90 95	

gga tcg ctg ttg ctc ctg ttc atc gag aac ctg gtc ccc atc ctc gcc	336
Gly Ser Leu Leu Leu Phe Ile Glu Asn Leu Val Pro Ile Leu Ala	
100 105 110	

aga aac gga ctt ttc tac gcc atc tgc gac gac ggt gcc tgg acc cag	384
Arg Asn Gly Leu Phe Tyr Ala Ile Cys Asp Asp Gly Ala Trp Thr Gln	
115 120 125	

64

cgc ctc gag ctc ctc tac tac ctc aac tac ctg gtc aag tac tgg gag	432
Arg Leu Glu Leu Leu Tyr Tyr Leu Asn Tyr Leu Val Lys Tyr Trp Glu	
130 135 140	
ttg gcc gac acc gtc ttt ttg gtc ctc aag aag aag cct ctt gag ttc	480
Leu Ala Asp Thr Val Phe Leu Val Leu Lys Lys Lys Pro Leu Glu Phe	
145 150 155 160	
ctg cac tac ttc cac cac tcg atg acc atg gtt ctc tgc ttt gtc cag	528
Leu His Tyr Phe His His Ser Met Thr Met Val Leu Cys Phe Val Gln	
165 170 175	
ctt gga gga tac act tca gtg tcc tgg gtc cct att acc ctc aac ttg	576
Leu Gly Gly Tyr Thr Ser Val Ser Trp Val Pro Ile Thr Leu Asn Leu	
180 185 190	
act gtc cac gtc ttc atg tac tac tac tac atg cgc tcc gct gcc ggt	624
Thr Val His Val Phe Met Tyr Tyr Tyr Tyr Met Arg Ser Ala Ala Gly	
195 200 205	
gtt cgc atc tgg tgg aag cag tac ttg acc act ctc cag atc gtc cag	672
Val Arg Ile Trp Trp Lys Gln Tyr Leu Thr Thr Leu Gln Ile Val Gln	
210 215 220	
ttc gtt ctt gac ctc gga ttc atc tac ttc tgc gcc tac acc tac ttc	720
Phe Val Leu Asp Leu Gly Phe Ile Tyr Phe Cys Ala Tyr Thr Tyr Phe	
225 230 235 240	
gcc ttc acc tac ttc ccc tgg gct ccc aac gtc ggc aag tgc gcc ggt	768
Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Trp Ala Pro Asn Val Gly Lys Cys Ala Gly	
245 250 255	
acc gag ggt gct gct ctc ttt ggc tgc gga ctc ctc tcc agc tat ctc	816
Thr Glu Gly Ala Ala Leu Phe Gly Cys Gly Leu Leu Ser Ser Tyr Leu	
260 265 270	
ttg ctc ttt atc aac ttc tac cgc att acc tac aat gcc aag gcc aag	864
Leu Leu Phe Ile Asn Phe Tyr Arg Ile Thr Tyr Asn Ala Lys Ala Lys	
275 280 285	
gca gcc aag gag cgt gga agc aac ttt acc ccc aag act gtc aag tcc	912
Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser	
290 295 300	
ggc gga tcg ccc aag aag ccc tcc aag agc aag cac atc taa	954
Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile	
305 310 315	

<210> 34

<211> 317

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

65

<400> 34

Met	Ala	Ala	Ala	Ile	Leu	Asp	Lys	Val	Asn	Phe	Gly	Ile	Asp	Gln	Pro	1	5	10	15
Phe	Gly	Ile	Lys	Leu	Asp	Thr	Tyr	Phe	Ala	Gln	Ala	Tyr	Glu	Leu	Val	20	25	30	
Thr	Gly	Lys	Ser	Ile	Asp	Ser	Phe	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Val	Thr	Pro	35	40	45	
Leu	Ser	Thr	Gln	Arg	Glu	Val	Ala	Met	Trp	Thr	Ile	Thr	Tyr	Phe	Val	50	55	60	
Val	Ile	Phe	Gly	Gly	Arg	Gln	Ile	Met	Lys	Ser	Gln	Asp	Ala	Phe	Lys	65	70	75	80
Leu	Lys	Pro	Leu	Phe	Ile	Leu	His	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr	Ile	Ala	Ser	85	90	95	
Gly	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Asn	Leu	Val	Pro	Ile	Leu	Ala	100	105	110	
Arg	Asn	Gly	Leu	Phe	Tyr	Ala	Ile	Cys	Asp	Asp	Gly	Ala	Trp	Thr	Gln	115	120	125	
Arg	Leu	Glu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Leu	Val	Lys	Tyr	Trp	Glu	130	135	140	
Leu	Ala	Asp	Thr	Val	Phe	Leu	Val	Leu	Lys	Lys	Lys	Pro	Leu	Glu	Phe	145	150	155	160
Leu	His	Tyr	Phe	His	His	Ser	Met	Thr	Met	Val	Leu	Cys	Phe	Val	Gln	165	170	175	
Leu	Gly	Gly	Tyr	Thr	Ser	Val	Ser	Trp	Val	Pro	Ile	Thr	Leu	Asn	Leu	180	185	190	
Thr	Val	His	Val	Phe	Met	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Met	Arg	Ser	Ala	Ala	Gly	195	200	205	
Val	Arg	Ile	Trp	Trp	Lys	Gln	Tyr	Leu	Thr	Thr	Leu	Gln	Ile	Val	Gln	210	215	220	
Phe	Val	Leu	Asp	Leu	Gly	Phe	Ile	Tyr	Phe	Cys	Ala	Tyr	Thr	Tyr	Phe	225	230	235	240
Ala	Phe	Thr	Tyr	Phe	Pro	Trp	Ala	Pro	Asn	Val	Gly	Lys	Cys	Ala	Gly	245	250	255	
Thr	Glu	Gly	Ala	Ala	Leu	Phe	Gly	Cys	Gly	Leu	Leu	Ser	Ser	Tyr	Leu	260	265	270	
Leu	Leu	Phe	Ile	Asn	Phe	Tyr	Arg	Ile	Thr	Tyr	Asn	Ala	Lys	Ala	Lys	275	280	285	

66

Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser
 290 295 300

Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile
 305 310 315

<210> 35

<211> 957

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(957)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 35

atg gag tcg att gcg cca ttc ctc cca tca aag atg ccg caa gat ctg 48
 Met Glu Ser Ile Ala Pro Phe Leu Pro Ser Lys Met Pro Gln Asp Leu
 1 5 10 15

ttt atg gac ctt gcc acc gct atc ggt gtc cgg gcc gcg ccc tat gtc 96
 Phe Met Asp Leu Ala Thr Ala Ile Gly Val Arg Ala Ala Pro Tyr Val
 20 25 30

gat cct ctc gag gcc gcg ctg gtg gcc cag gcc gag aag tac atc ccc 144
 Asp Pro Leu Glu Ala Ala Leu Val Ala Gln Ala Glu Lys Tyr Ile Pro
 35 40 45

acg att gtc cat cac acg cgt ggg ttc ctg gtc gcg gtg gag tcg cct 192
 Thr Ile Val His His Thr Arg Gly Phe Leu Val Ala Val Glu Ser Pro
 50 55 60

ttg gcc cgt gag ctg ccg ttg atg aac ccg ttc cac gtg ctg ttg atc 240
 Leu Ala Arg Glu Leu Pro Leu Met Asn Pro Phe His Val Leu Leu Ile
 65 70 75 80

gtg ctc gct tat ttg gtc acg gtc ttt gtg ggc atg cag atc atg aag 288
 Val Leu Ala Tyr Leu Val Thr Val Phe Val Gly Met Gln Ile Met Lys
 85 90 95

aac ttt gag cgg ttc gag gtc aag acg ttt tcg ctc ctg cac aac ttt 336
 Asn Phe Glu Arg Phe Glu Val Lys Thr Phe Ser Leu Leu His Asn Phe
 100 105 110

tgt ctg gtc tcg atc agc gcc tac atg tgc ggt ggg atc ctg tac gag 384
 Cys Leu Val Ser Ile Ser Ala Tyr Met Cys Gly Gly Ile Leu Tyr Glu
 115 120 125

67

gct tat cag gcc aac tat gga ctg ttt gag aac gct gct gat cat acc 432
 Ala Tyr Gln Ala Asn Tyr Gly Leu Phe Glu Asn Ala Ala Asp His Thr
 130 135 140

ttc aag ggt ctt cct atg gcc aag atg atc tgg ctc ttc tac ttc tcc 480
 Phe Lys Gly Leu Pro Met Ala Lys Met Ile Trp Leu Phe Tyr Phe Ser
 145 150 155 160

aag atc atg gag ttt gtc gac acc atg atc atg gtc ctc aag aag aac 528
 Lys Ile Met Glu Phe Val Asp Thr Met Ile Met Val Leu Lys Lys Asn
 165 170 175

aac cgc cag atc tcc ttc ttg cac gtt tac cac cac agc tcc atc ttc 576
 Asn Arg Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Phe
 180 185 190

acc atc tgg tgg ttg gtc acc ttt gtt gca ccc aac ggt gaa gcc tac 624
 Thr Ile Trp Trp Leu Val Thr Phe Val Ala Pro Asn Gly Glu Ala Tyr
 195 200 205

ttc tct gct gcg ttg aac tcg ttc atc cat gtg atc atg tac ggc tac 672
 Phe Ser Ala Ala Leu Asn Ser Phe Ile His Val Ile Met Tyr Gly Tyr
 210 215 220

tac ttc ttg tcg gcc ttg ggc ttc aag cag gtg tcg ttc atc aag ttc 720
 Tyr Phe Leu Ser Ala Leu Gly Phe Lys Gln Val Ser Phe Ile Lys Phe
 225 230 235 240

tac atc acg cgc tcg cag atg aca cag ttc tgc atg atg tcg gtc cag 768
 Tyr Ile Thr Arg Ser Gln Met Thr Gln Phe Cys Met Met Ser Val Gln
 245 250 255

tct tcc tgg gac atg tac gcc atg aag gtc ctt ggc cgc ccc gga tac 816
 Ser Ser Trp Asp Met Tyr Ala Met Lys Val Leu Gly Arg Pro Gly Tyr
 260 265 270

ccc ttc ttc atc acg gct ctg ctt tgg ttc tac atg tgg acc atg ctc 864
 Pro Phe Phe Ile Thr Ala Leu Leu Trp Phe Tyr Met Trp Thr Met Leu
 275 280 285

ggt ctc ttc tac aac ttt tac aga aag aac gcc aag ttg gcc aag cag 912
 Gly Leu Phe Tyr Asn Phe Tyr Arg Lys Asn Ala Lys Leu Ala Lys Gln
 290 295 300

gcc aag gcc gac gct gcc aag gag aag gca agg aag ttg cag taa 957
 Ala Lys Ala Asp Ala Ala Lys Glu Lys Ala Arg Lys Leu Gln
 305 310 315

<210> 36

<211> 318

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

68

<400> 36

Met	Glu	Ser	Ile	Ala	Pro	Phe	Leu	Pro	Ser	Lys	Met	Pro	Gln	Asp	Leu	1	5	10	15
Phe	Met	Asp	Leu	Ala	Thr	Ala	Ile	Gly	Val	Arg	Ala	Ala	Pro	Tyr	Val	20	25	30	
Asp	Pro	Leu	Glu	Ala	Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Ala	Glu	Lys	Tyr	Ile	Pro	35	40	45	
Thr	Ile	Val	His	His	Thr	Arg	Gly	Phe	Leu	Val	Ala	Val	Glu	Ser	Pro	50	55	60	
Leu	Ala	Arg	Glu	Leu	Pro	Leu	Met	Asn	Pro	Phe	His	Val	Leu	Leu	Ile	65	70	75	80
Val	Leu	Ala	Tyr	Leu	Val	Thr	Val	Phe	Val	Gly	Met	Gln	Ile	Met	Lys	85	90	95	
Asn	Phe	Glu	Arg	Phe	Glu	Val	Lys	Thr	Phe	Ser	Leu	Leu	His	Asn	Phe	100	105	110	
Cys	Leu	Val	Ser	Ile	Ser	Ala	Tyr	Met	Cys	Gly	Gly	Ile	Leu	Tyr	Glu	115	120	125	
Ala	Tyr	Gln	Ala	Asn	Tyr	Gly	Leu	Phe	Glu	Asn	Ala	Ala	Asp	His	Thr	130	135	140	
Phe	Lys	Gly	Leu	Pro	Met	Ala	Lys	Met	Ile	Trp	Leu	Phe	Tyr	Phe	Ser	145	150	155	160
Lys	Ile	Met	Glu	Phe	Val	Asp	Thr	Met	Ile	Met	Val	Leu	Lys	Lys	Asn	165	170	175	
Asn	Arg	Gln	Ile	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	His	His	Ser	Ser	Ile	Phe	180	185	190	
Thr	Ile	Trp	Trp	Leu	Val	Thr	Phe	Val	Ala	Pro	Asn	Gly	Glu	Ala	Tyr	195	200	205	
Phe	Ser	Ala	Ala	Leu	Asn	Ser	Phe	Ile	His	Val	Ile	Met	Tyr	Gly	Tyr	210	215	220	
Tyr	Phe	Leu	Ser	Ala	Leu	Gly	Phe	Lys	Gln	Val	Ser	Phe	Ile	Lys	Phe	225	230	235	240
Tyr	Ile	Thr	Arg	Ser	Gln	Met	Thr	Gln	Phe	Cys	Met	Met	Ser	Val	Gln	245	250	255	
Ser	Ser	Trp	Asp	Met	Tyr	Ala	Met	Lys	Val	Leu	Gly	Arg	Pro	Gly	Tyr	260	265	270	
Pro	Phe	Phe	Ile	Thr	Ala	Leu	Leu	Trp	Phe	Tyr	Met	Trp	Thr	Met	Leu	275	280	285	

69

Gly Leu Phe Tyr Asn Phe Tyr Arg Lys Asn Ala Lys Leu Ala Lys Gln
 290 295 300

Ala Lys Ala Asp Ala Ala Lys Glu Lys Ala Arg Lys Leu Gln
 305 310 315

<210> 37

<211> 867

<212> DNA

<213> Caenorhabditis elegans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(867)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 37

atg gct cag cat ccg ctc gtt caa cgg ctt ctc gat gtc aaa ttc gac 48
 Met Ala Gln His Pro Leu Val Gln Arg Leu Leu Asp Val Lys Phe Asp
 1 5 10 15

acg aaa cga ttt gtg gct att gct act cat ggg cca aag aat ttc cct 96
 Thr Lys Arg Phe Val Ala Ile Ala Thr His Gly Pro Lys Asn Phe Pro
 20 25 30

gac gca gaa ggt cgc aag ttc ttt gct gat cac ttt gat gtt act att 144
 Asp Ala Glu Gly Arg Lys Phe Phe Ala Asp His Phe Asp Val Thr Ile
 35 40 45

cag gct tca atc ctg tac atg gtc gtt gtg ttc gga aca aaa tgg ttc 192
 Gln Ala Ser Ile Leu Tyr Met Val Val Val Phe Gly Thr Lys Trp Phe
 50 55 60

atg cgt aat cgt caa cca ttc caa ttg act att cca ctc aac atc tgg 240
 Met Arg Asn Arg Gln Pro Phe Gln Leu Thr Ile Pro Leu Asn Ile Trp
 65 70 75 80

aat ttc atc ctc gcc gca ttt tcc atc gca gga gct gtc aaa atg acc 288
 Asn Phe Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Ala Gly Ala Val Lys Met Thr
 85 90 95

cca gag ttc ttt gga acc att gcc aac aaa gga att gtc gca tcc tac 336
 Pro Glu Phe Phe Gly Thr Ile Ala Asn Lys Gly Ile Val Ala Ser Tyr
 100 105 110

tgc aaa gtg ttt gat ttc acg aaa gga gag aat gga tac tgg gtg tgg 384
 Cys Lys Val Phe Asp Phe Thr Lys Gly Glu Asn Gly Tyr Trp Val Trp
 115 120 125

70

ctc ttc atg gct tcc aaa ctt ttc gaa ctt gtt gac acc atc ttc ttg 432
 Leu Phe Met Ala Ser Lys Leu Phe Glu Leu Val Asp Thr Ile Phe Leu
 130 135 140

gtt ctc cgt aaa cgt cca ctc atg ttc ctt cac tgg tat cac cat att 480
 Val Leu Arg Lys Arg Pro Leu Met Phe Leu His Trp Tyr His His Ile
 145 150 155 160

ctc acc atg atc tac gcc tgg tac tct cat cca ttg acc cca gga ttc 528
 Leu Thr Met Ile Tyr Ala Trp Tyr Ser His Pro Leu Thr Pro Gly Phe
 165 170 175

aac aga tac gga att tat ctt aac ttt gtc gtc cac gcc ttc atg tac 576
 Asn Arg Tyr Gly Ile Tyr Leu Asn Phe Val Val His Ala Phe Met Tyr
 180 185 190

tct tac tac ttc ctt cgc tcg atg aag att cgc gtg cca gga ttc atc 624
 Ser Tyr Tyr Phe Leu Arg Ser Met Lys Ile Arg Val Pro Gly Phe Ile
 195 200 205

gcc caa gct atc aca tct ctt caa atc gtt caa ttc atc atc tct tgc 672
 Ala Gln Ala Ile Thr Ser Leu Gln Ile Val Gln Phe Ile Ile Ser Cys
 210 215 220

gcc gtt ctt gct cat ctt ggt tat ctc atg cac ttc acc aat gcc aac 720
 Ala Val Leu Ala His Leu Gly Tyr Leu Met His Phe Thr Asn Ala Asn
 225 230 235 240

tgt gat ttc gag cca tca gta ttc aag ctc gca gtt ttc atg gac aca 768
 Cys Asp Phe Glu Pro Ser Val Phe Lys Leu Ala Val Phe Met Asp Thr
 245 250 255

aca tac ttg gct ctt ttc gtc aac ttc ttc ctc caa tca tat gtt ctc 816
 Thr Tyr Leu Ala Leu Phe Val Asn Phe Phe Leu Gln Ser Tyr Val Leu
 260 265 270

cgc gga gga aaa gac aag tac aag gca gtg cca aag aag aag aac aac 864
 Arg Gly Gly Lys Asp Lys Tyr Lys Ala Val Pro Lys Lys Lys Asn Asn
 275 280 285

taa 867

<210> 38

<211> 288

<212> PRT

<213> Caenorhabditis elegans

<400> 38

Met Ala Gln His Pro Leu Val Gln Arg Leu Leu Asp Val Lys Phe Asp
 1 5 10 15

71

Thr Lys Arg Phe Val Ala Ile Ala Thr His Gly Pro Lys Asn Phe Pro
 20 25 30
 Asp Ala Glu Gly Arg Lys Phe Phe Ala Asp His Phe Asp Val Thr Ile
 35 40 45
 Gln Ala Ser Ile Leu Tyr Met Val Val Val Phe Gly Thr Lys Trp Phe
 50 55 60
 Met Arg Asn Arg Gln Pro Phe Gln Leu Thr Ile Pro Leu Asn Ile Trp
 65 70 75 80
 Asn Phe Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Ala Gly Ala Val Lys Met Thr
 85 90 95
 Pro Glu Phe Phe Gly Thr Ile Ala Asn Lys Gly Ile Val Ala Ser Tyr
 100 105 110
 Cys Lys Val Phe Asp Phe Thr Lys Gly Glu Asn Gly Tyr Trp Val Trp
 115 120 125
 Leu Phe Met Ala Ser Lys Leu Phe Glu Leu Val Asp Thr Ile Phe Leu
 130 135 140
 Val Leu Arg Lys Arg Pro Leu Met Phe Leu His Trp Tyr His His Ile
 145 150 155 160
 Leu Thr Met Ile Tyr Ala Trp Tyr Ser His Pro Leu Thr Pro Gly Phe
 165 170 175
 Asn Arg Tyr Gly Ile Tyr Leu Asn Phe Val Val His Ala Phe Met Tyr
 180 185 190
 Ser Tyr Tyr Phe Leu Arg Ser Met Lys Ile Arg Val Pro Gly Phe Ile
 195 200 205
 Ala Gln Ala Ile Thr Ser Leu Gln Ile Val Gln Phe Ile Ile Ser Cys
 210 215 220
 Ala Val Leu Ala His Leu Gly Tyr Leu Met His Phe Thr Asn Ala Asn
 225 230 235 240
 Cys Asp Phe Glu Pro Ser Val Phe Lys Leu Ala Val Phe Met Asp Thr
 245 250 255
 Thr Tyr Leu Ala Leu Phe Val Asn Phe Phe Leu Gln Ser Tyr Val Leu
 260 265 270
 Arg Gly Gly Lys Asp Lys Tyr Lys Ala Val Pro Lys Lys Lys Asn Asn
 275 280 285

<210> 39

<211> 1626

<212> DNA

<213> *Euglena gracilis*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1626)

<223> Delta-4-Desaturase

<400> 39

atg ttg gtg ctg ttt ggc aat ttc tat gtc aag caa tac tcc daa aag	48
Met Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Lys Gln Tyr Ser Gln Lys	
1 5 10 15	
aac ggc aag ccg gag aac gga gcc acc cct gag aac gga gcg aag ccg	96
Asn Gly Lys Pro Glu Asn Gly Ala Thr Pro Glu Asn Gly Ala Lys Pro	
20 25 30	
caa cct tgc gag aac ggc acg gtg gaa aag cga gag aat gac acc gcc	144
Gln Pro Cys Glu Asn Gly Thr Val Glu Lys Arg Glu Asn Asp Thr Ala	
35 40 45	
aac gtt cgg'ccc acc cgt cca gct gga ccc ccg ccg gcc acg tac tac	192
Asn Val Arg Pro Thr Arg Pro Ala Gly Pro Pro Pro Ala Thr Tyr Tyr	
50 55 60	
gac tcc ctg gca gtg tcg ggg cag ggc aag gag ccg ctg ttc acc acc	240
Asp Ser Leu Ala Val Ser Gly Gln Gly Lys Glu Arg Leu Phe Thr Thr	
65 70 75 80	
gat gag gtg agg cgg cac atc ctc ccc acc gat ggc tgg ctg acg tgc	288
Asp Glu Val Arg Arg His Ile Leu Pro Thr Asp Gly Trp Leu Thr Cys	
85 90 95	
cac gaa gga gtc tac gat gtc act gat ttc ctt gcc aag cac cct ggt	336
His Glu Gly Val Tyr Asp Val Thr Asp Phe Leu Ala Lys His Pro Gly	
100 105 110	
ggc ggt gtc atc acg ctg ggc ctt gga agg gac tgc aca atc ctc atc	384
Gly Gly Val Ile Thr Leu Gly Leu Gly Arg Asp Cys Thr Ile Leu Ile	
115 120 125	
gag tca tac cac cct gct ggg cgc ccg gac aag gtg atg gag aag tac	432
Glu Ser Tyr His Pro Ala Gly Arg Pro Asp Lys Val Met Glu Lys Tyr	
130 135 140	
cgc att ggt acg ctg cag gac ccc aag acg ttc tat gct tgg gga gag	480
Arg Ile Gly Thr Leu Gln Asp Pro Lys Thr Phe Tyr Ala Trp Gly Glu	
145 150 155 160	

73

tcc gat ttc tac cct gag ttg aag cgc cgg gcc ctt gca agg ctg aag	528
Ser Asp Phe Tyr Pro Glu Leu Lys Arg Arg Ala Leu Ala Arg Leu Lys	
165 170 175	
gag gct ggt cag gcg cgg cgc ggc ggc ctt ggg gtg aag gcc ctc ctg	576
Glu Ala Gly Gln Ala Arg Arg Gly Gly Leu Gly Val Lys Ala Leu Leu	
180 185 190	
gtg ctc acc ctc ttc ttc gtg tgg tac atg tgg gtg gcc cac aag	624
Val Leu Thr Leu Phe Phe Val Ser Trp Tyr Met Trp Val Ala His Lys	
195 200 205	
tcc ttc ctc tgg gcc gcc gtc tgg ggc ttc gcc ggc tcc cac gtc ggg	672
Ser Phe Leu Trp Ala Ala Val Trp Gly Phe Ala Gly Ser His Val Gly	
210 215 220	
ctg agc atc cag cac gat ggc aac cac ggc gcg ttc agc cgc aac aca	720
Leu Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly Ala Phe Ser Arg Asn Thr	
225 230 235 240	
ctg gtg aac cgc ctg gcg ggg tgg ggc atg gac ttg atc ggc gcg tgg	768
Leu Val Asn Arg Leu Ala Gly Trp Gly Met Asp Leu Ile Gly Ala Ser	
245 250 255	
tcc acg gtg tgg gag tac cag cac gtc atc ggc cac cac cag tac acc	816
Ser Thr Val Trp Glu Tyr Gln His Val Ile Gly His His Gln Tyr Thr	
260 265 270	
aac ctc gtg tgg gac acg cta ttc agt ctg cct gag aac gat ccg gac	864
Asn Leu Val Ser Asp Thr Leu Phe Ser Leu Pro Glu Asn Asp Pro Asp	
275 280 285	
gtc ttc tcc agc tac ccg ctg atg cgc atg cac ccg gat acg gcg tgg	912
Val Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Met Arg Met His Pro Asp Thr Ala Trp	
290 295 300	
cag ccg cac cac cgc ttc cag cac ctg ttc gcg ttc cca ctg ttc gcc	960
Gln Pro His His Arg Phe Gln His Leu Phe Ala Phe Pro Leu Phe Ala	
305 310 315 320	
ctg atg aca atc agc aag gtg ctg acc agc gat ttc gct gtc tgc ctc	1008
Leu Met Thr Ile Ser Lys Val Leu Thr Ser Asp Phe Ala Val Cys Leu	
325 330 335	
agc atg aag aag ggg tcc atc gac tgc tcc tcc agg ctc gtc cca ctg	1056
Ser Met Lys Lys Gly Ser Ile Asp Cys Ser Ser Arg Leu Val Pro Leu	
340 345 350	
gag ggg cag ctg ctg ttc tgg ggg gcc aag ctg gcg aac ttc ctg ttg	1104
Glu Gly Gln Leu Leu Phe Trp Gly Ala Lys Leu Ala Asn Phe Leu Leu	
355 360 365	
cag att gtg ttg cca tgc tac ctc cac ggg aca gct atg ggc ctg gcc	1152
Gln Ile Val Leu Pro Cys Tyr Leu His Gly Thr Ala Met Gly Leu Ala	
370 375 380	

74

ctc ttc tct gtt gct cac ctt gtg tgc ggg gag tac ctc gcg atc tgc 1200
 Leu Phe Ser Val Ala His Leu Val Ser Gly Glu Tyr Leu Ala Ile Cys
 385 390 395 400

ttc atc atc aac cac atc agc gag tct tgt gag ttt atg aat aca agc 1248
 Phe Ile Ile Asn His Ile Ser Glu Ser Cys Glu Phe Met Asn Thr Ser
 405 410 415

ttt caa acc gcc gcc cgg agg aca gag atg ctt cag gca gca cat cag 1296
 Phe Gln Thr Ala Ala Arg Arg Thr Glu Met Leu Gln Ala Ala His Gln
 420 425 430

gca gcg gag gcc aag aag gtg aag ccc acc cct cca ccg aac gat tgg 1344
 Ala Ala Glu Ala Lys Lys Val Lys Pro Thr Pro Pro Pro Asn Asp Trp
 435 440 445

gct gtg aca cag gtc caa tgc tgc gtg aat tgg aga tca ggt ggc gtg 1392
 Ala Val Thr Gln Val Gln Cys Cys Val Asn Trp Arg Ser Gly Gly Val
 450 455 460

ttg gcc aat cac ctc tct gga ggc ttg aac cac cag atc gag cat cat 1440
 Leu Ala Asn His Leu Ser Gly Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His
 465 470 475 480

ctg ttc ccc agc atc tgc cat gcc aac tac ccc acc atc gcc cct gtt 1488
 Leu Phe Pro Ser Ile Ser His Ala Asn Tyr Pro Thr Ile Ala Pro Val
 485 490 495

gtg aag gag gtg tgc gag gag tac ggg ttg ccg tac aag aat tac gtc 1536
 Val Lys Glu Val Cys Glu Glu Tyr Gly Leu Pro Tyr Lys Asn Tyr Val
 500 505 510

acg ttc tgg gat gca gtc tgt ggc atg gtt cag cac ctc cgg ttg atg 1584
 Thr Phe Trp Asp Ala Val Cys Gly Met Val Gln His Leu Arg Leu Met
 515 520 525

ggt gct cca ccg gtg cca acg aac ggg gac aaa aag tca taa 1626
 Gly Ala Pro Pro Val Pro Thr Asn Gly Asp Lys Lys Ser
 530 535 540

<210> 40

<211> 541

<212> PRT

<213> Euglena gracilis

<400> 40

Met Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Lys Gln Tyr Ser Gln Lys
 1 5 10 15

Asn Gly Lys Pro Glu Asn Gly Ala Thr Pro Glu Asn Gly Ala Lys Pro
 20 25 30

75

Gln Pro Cys Glu Asn Gly Thr Val Glu Lys Arg Glu Asn Asp Thr Ala
 35 40 45
 Asn Val Arg Pro Thr Arg Pro Ala Gly Pro Pro Pro Ala Thr Tyr Tyr
 50 55 60
 Asp Ser Leu Ala Val Ser Gly Gln Gly Lys Glu Arg Leu Phe Thr Thr
 65 70 75 80
 Asp Glu Val Arg Arg His Ile Leu Pro Thr Asp Gly Trp Leu Thr Cys
 85 90 95
 His Glu Gly Val Tyr Asp Val Thr Asp Phe Leu Ala Lys His Pro Gly
 100 105 110
 Gly Gly Val Ile Thr Leu Gly Leu Gly Arg Asp Cys Thr Ile Leu Ile
 115 120 125
 Glu Ser Tyr His Pro Ala Gly Arg Pro Asp Lys Val Met Glu Lys Tyr
 130 135 140
 Arg Ile Gly Thr Leu Gln Asp Pro Lys Thr Phe Tyr Ala Trp Gly Glu
 145 150 155 160
 Ser Asp Phe Tyr Pro Glu Leu Lys Arg Arg Ala Leu Ala Arg Leu Lys
 165 170 175
 Glu Ala Gly Gln Ala Arg Arg Gly Gly Leu Gly Val Lys Ala Leu Leu
 180 185 190
 Val Leu Thr Leu Phe Phe Val Ser Trp Tyr Met Trp Val Ala His Lys
 195 200 205
 Ser Phe Leu Trp Ala Ala Val Trp Gly Phe Ala Gly Ser His Val Gly
 210 215 220
 Leu Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly Ala Phe Ser Arg Asn Thr
 225 230 235 240
 Leu Val Asn Arg Leu Ala Gly Trp Gly Met Asp Leu Ile Gly Ala Ser
 245 250 255
 Ser Thr Val Trp Glu Tyr Gln His Val Ile Gly His His Gln Tyr Thr
 260 265 270
 Asn Leu Val Ser Asp Thr Leu Phe Ser Leu Pro Glu Asn Asp Pro Asp
 275 280 285
 Val Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Met Arg Met His Pro Asp Thr Ala Trp
 290 295 300
 Gln Pro His His Arg Phe Gln His Leu Phe Ala Phe Pro Leu Phe Ala
 305 310 315 320
 Leu Met Thr Ile Ser Lys Val Leu Thr Ser Asp Phe Ala Val Cys Leu
 325 330 335

76

Ser Met Lys Lys Gly Ser Ile Asp Cys Ser Ser Arg Leu Val Pro Leu
340 345 350

Glu Gly Gln Leu Leu Phe Trp Gly Ala Lys Leu Ala Asn Phe Leu Leu
355 360 365

Gln Ile Val Leu Pro Cys Tyr Leu His Gly Thr Ala Met Gly Leu Ala
370 375 380

Leu Phe Ser Val Ala His Leu Val Ser Gly Glu Tyr Leu Ala Ile Cys
385 390 395 400

Phe Ile Ile Asn His Ile Ser Glu Ser Cys Glu Phe Met Asn Thr Ser
405 410 415

Phe Gln Thr Ala Ala Arg Arg Thr Glu Met Leu Gln Ala Ala His Gln
420 425 430

Ala Ala Glu Ala Lys Lys Val Lys Pro Thr Pro Pro Pro Asn Asp Trp
435 440 445

Ala Val Thr Gln Val Gln Cys Cys Val Asn Trp Arg Ser Gly Gly Val
450 455 460

Leu Ala Asn His Leu Ser Gly Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His
465 470 475 480

Leu Phe Pro Ser Ile Ser His Ala Asn Tyr Pro Thr Ile Ala Pro Val
485 490 495

Val Lys Glu Val Cys Glu Glu Tyr Gly Leu Pro Tyr Lys Asn Tyr Val
500 505 510

Thr Phe Trp Asp Ala Val Cys Gly Met Val Gln His Leu Arg Leu Met
515 520 525

Gly Ala Pro Pro Val Pro Thr Asn Gly Asp Lys Lys Ser
530 535 540

<210> 41

<211> 1548

<212> DNA

<213> Thraustochytrium

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1548)

<223> Delta-4-Desaturase

77

<400> 41

atg acg gtc ggg ttt gac gaa acg gtg act atg gac acg gtc cgc aac	48
Met Thr Val Gly Phe Asp Glu Thr Val Thr Met Asp Thr Val Arg Asn	
1 5 10 15	
cac aac atg ccg gac gac gcc tgg tgc gcg atc cac ggc acc gtg tac	96
His Asn Met Pro Asp Asp Ala Trp Cys Ala Ile His Gly Thr Val Tyr	
20 25 30	
gac atc acc aag ttc agc aag gtg cac ccc ggc ggg gac atc atc atg	144
Asp Ile Thr Lys Phe Ser Lys Val His Pro Gly Gly Asp Ile Ile Met	
35 40 45	
ctg gcc gct ggc aag gag gcc acc atc ctg ttc gag acc tac cac atc	192
Leu Ala Ala Gly Lys Glu Ala Thr Ile Leu Phe Glu Thr Tyr His Ile	
50 55 60	
aag ggc gtc ccg gac gcg gtg ctg cgc aag tac aag gtc ggc aag ctc	240
Lys Gly Val Pro Asp Ala Val Leu Arg Lys Tyr Lys Val Gly Lys Leu	
65 70 75 80	
ccc cag ggc aag aag ggc gaa acg agc cac atg ccc acc ggc ctc gac	288
Pro Gln Gly Lys Lys Gly Glu Thr Ser His Met Pro Thr Gly Leu Asp	
85 90 95	
tcg gcc tcc tac tac tcg tgg gac agc gag ttt tac agg gtg ctc cgc	336
Ser Ala Ser Tyr Tyr Ser Trp Asp Ser Glu Phe Tyr Arg Val Leu Arg	
100 105 110	
gag cgc gtc gcc aag aag ctg gcc gag ccc ggc ctc atg cag cgc gcg	384
Glu Arg Val Ala Lys Lys Leu Ala Glu Pro Gly Leu Met Gln Arg Ala	
115 120 125	
cgc atg gag ctc tgg gcc aag gcg atc ttc ctc ctg gca ggt ttc tgg	432
Arg Met Glu Leu Trp Ala Lys Ala Ile Phe Leu Leu Ala Gly Phe Trp	
130 135 140	
ggc tcc ctt tac gcc atg tgc gtg cta gac ccg cac ggc ggt gcc atg	480
Gly Ser Leu Tyr Ala Met Cys Val Leu Asp Pro His Gly Gly Ala Met	
145 150 155 160	
gta gcc gcc gtt acg ctc ggc gtg ttc gct gcc ttt gtc gga act tgc	528
Val Ala Ala Val Thr Leu Gly Val Phe Ala Ala Phe Val Gly Thr Cys	
165 170 175	
atc cag cac gac ggc agc cac ggc gcc ttc tcc aag tcg cga ttc atg	576
Ile Gln His Asp Gly Ser His Gly Ala Phe Ser Lys Ser Arg Phe Met	
180 185 190	
aac aag gcg gcg ggc tgg acc ctc gac atg atc ggc gcg agt gcg atg	624
Asn Lys Ala Ala Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Met	
195 200 205	

78

acc tgg gag atg cag cac gtt ctt ggc cac cac ccg tac acc aac ctc Thr Trp Glu Met Gln His Val Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Leu 210 215 220	672
atc gag atg gag aac ggt ttg gcc aag gtc aag ggc gcc gac gtc gac Ile Glu Met Glu Asn Gly Leu Ala Lys Val Lys Gly Ala Asp Val Asp 225 230 235 240	720
ccg aag aag gtc gac cag gag agc gac ccg gac gtc ttc agt acg tac Pro Lys Lys Val Asp Gln Glu Ser Asp Pro Asp Val Phe Ser Thr Tyr 245 250 255	768
ccg atg ctt cgc ctg cac ccg tgg cac cgc cag cgg ttt tac cac aag Pro Met Leu Arg Leu His Pro Trp His Arg Gln Arg Phe Tyr His Lys 260 265 270	816
ttc cag cac ctg tac gcc ccg ttt atc ttt ggg tct atg acg att aac Phe Gln His Leu Tyr Ala Pro Phe Ile Phe Gly Ser Met Thr Ile Asn 275 280 285	864
aag gtg att tcc cag gat gtc ggg gtt gtg ctg cgc aag cgc ctg ttc Lys Val Ile Ser Gln Asp Val Gly Val Val Leu Arg Lys Arg Leu Phe 290 295 300	912
cag atc gac gcc aac tgc cgg tat ggc agc ccc tgg tac gtg gcc cgc Gln Ile Asp Ala Asn Cys Arg Tyr Gly Ser Pro Trp Tyr Val Ala Arg 305 310 315 320	960
ttc tgg atc atg aag ctc ctc acc acg ctc tac atg gtg gcg ctt ccc Phe Trp Ile Met Lys Leu Leu Thr Thr Leu Tyr Met Val Ala Leu Pro 325 330 335	1008
atg tac atg cag ggg cct gct cag ggc ttg aag ctt ttc ttc atg gcc Met Tyr Met Gln Gly Pro Ala Gln Gly Leu Lys Leu Phe Phe Met Ala 340 345 350	1056
cac ttc acc tgc gga gag gtc ctc gcc acc atg ttt att gtc aac cac His Phe Thr Cys Gly Glu Val Leu Ala Thr Met Phe Ile Val Asn His 355 360 365	1104
atc atc gag ggc gtc agc tac gct tcc aag gac gcg gtc aag ggc gtc Ile Ile Glu Gly Val Ser Tyr Ala Ser Lys Asp Ala Val Lys Gly Val 370 375 380	1152
atg gct ccg ccg cgc act gtg cac ggt gtc acc ccg atg cag gtg acg Met Ala Pro Pro Arg Thr Val His Gly Val Thr Pro Met Gln Val Thr 385 390 395 400	1200
caa aag gcg ctc agt gcg gcc gag tgc gcc aag tgc gac gcc gac aag Gln Lys Ala Leu Ser Ala Ala Glu Ser Ala Lys Ser Asp Ala Asp Lys 405 410 415	1248
acg acc atg atc ccc ctc aac gac tgg gcc gct gtg cag tgc cag acc Thr Thr Met Ile Pro Leu Asn Asp Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr 420 425 430	1296

79

tct gtg aac tgg gct gtc ggg tgc tgg ttt tgg aac cac ttt tgc ggc	1344
Ser Val Asn Trp Ala Val Gly Ser Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly	
435 440 445	
ggc ctc aac cac cag att gag cac cac tgc ttc ccc caa aac ccc cac	1392
Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His Cys Phe Pro Gln Asn Pro His	
450 455 460	
acg gtc aac gtc tac atc tgc ggc atc gtc aag gag acc tgc gaa gaa	1440
Thr Val Asn Val Tyr Ile Ser Gly Ile Val Lys Glu Thr Cys Glu Glu	
465 470 475 480	
tac ggc gtg ccg tac cag gct gag atc agc ctc ttc tct gcc tat ttc	1488
Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ala Glu Ile Ser Leu Phe Ser Ala Tyr Phe	
485 490 495	
aag atg ctg tgc cac ctc cgc acg ctc ggc aac gag gac ctc acg gcc	1536
Lys Met Leu Ser His Leu Arg Thr Leu Gly Asn Glu Asp Leu Thr Ala	
500 505 510	
tgg tcc acg tga	1548
Trp Ser Thr	
515	
<210> 42	
<211> 515	
<212> PRT	
<213> Thraustochytrium	
<400> 42	
Met Thr Val Gly Phe Asp Glu Thr Val Thr Met Asp Thr Val Arg Asn	
1 5 10 15	
His Asn Met Pro Asp Asp Ala Trp Cys Ala Ile His Gly Thr Val Tyr	
20 25 30	
Asp Ile Thr Lys Phe Ser Lys Val His Pro Gly Gly Asp Ile Ile Met	
35 40 45	
Leu Ala Ala Gly Lys Glu Ala Thr Ile Leu Phe Glu Thr Tyr His Ile	
50 55 60	
Lys Gly Val Pro Asp Ala Val Leu Arg Lys Tyr Lys Val Gly Lys Leu	
65 70 75 80	
Pro Gln Gly Lys Lys Gly Glu Thr Ser His Met Pro Thr Gly Leu Asp	
85 90 95	
Ser Ala Ser Tyr Tyr Ser Trp Asp Ser Glu Phe Tyr Arg Val Leu Arg	
100 105 110	

80

Glu Arg Val Ala Lys Lys Leu Ala Glu Pro Gly Leu Met Gln Arg Ala
115 120 125

Arg Met Glu Leu Trp Ala Lys Ala Ile Phe Leu Leu Ala Gly Phe Trp
130 135 140

Gly Ser Leu Tyr Ala Met Cys Val Leu Asp Pro His Gly Gly Ala Met
145 150 155 160

Val Ala Ala Val Thr Leu Gly Val Phe Ala Ala Phe Val Gly Thr Cys
165 170 175

Ile Gln His Asp Gly Ser His Gly Ala Phe Ser Lys Ser Arg Phe Met
180 185 190

Asn Lys Ala Ala Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Met
195 200 205

Thr Trp Glu Met Gln His Val Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Leu
210 215 220

Ile Glu Met Glu Asn Gly Leu Ala Lys Val Lys Gly Ala Asp Val Asp
225 230 235 240

Pro Lys Lys Val Asp Gln Glu Ser Asp Pro Asp Val Phe Ser Thr Tyr
245 250 255

Pro Met Leu Arg Leu His Pro Trp His Arg Gln Arg Phe Tyr His Lys
260 265 270

Phe Gln His Leu Tyr Ala Pro Phe Ile Phe Gly Ser Met Thr Ile Asn
275 280 285

Lys Val Ile Ser Gln Asp Val Gly Val Val Leu Arg Lys Arg Leu Phe
290 295 300

Gln Ile Asp Ala Asn Cys Arg Tyr Gly Ser Pro Trp Tyr Val Ala Arg
305 310 315 320

Phe Trp Ile Met Lys Leu Leu Thr Thr Leu Tyr Met Val Ala Leu Pro
325 330 335

Met Tyr Met Gln Gly Pro Ala Gln Gly Leu Lys Leu Phe Phe Met Ala
340 345 350

His Phe Thr Cys Gly Glu Val Leu Ala Thr Met Phe Ile Val Asn His
355 360 365

Ile Ile Glu Gly Val Ser Tyr Ala Ser Lys Asp Ala Val Lys Gly Val
370 375 380

Met Ala Pro Pro Arg Thr Val His Gly Val Thr Pro Met Gln Val Thr
385 390 395 400

Gln Lys Ala Leu Ser Ala Ala Glu Ser Ala Lys Ser Asp Ala Asp Lys
405 410 415

81

Thr Thr Met Ile Pro Leu Asn Asp Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr
420 425 430

Ser Val Asn Trp Ala Val Gly Ser Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly
435 440 445

Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His Cys Phe Pro Gln Asn Pro His
450 455 460

Thr Val Asn Val Tyr Ile Ser Gly Ile Val Lys Glu Thr Cys Glu Glu
465 470 475 480

Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ala Glu Ile Ser Leu Phe Ser Ala Tyr Phe
485 490 495

Lys Met Leu Ser His Leu Arg Thr Leu Gly Asn Glu Asp Leu Thr Ala
500 505 510

Trp Ser Thr
515

<210> 43

<211> 960

<212> DNA

<213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(960)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 43

atg gtg ttg tac aat gtg gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg 48
Met Val Leu Tyr Asn Val Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val
1 5 10 15

tat gcg att gtg gat gcg gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga 96
Tyr Ala Ile Val Asp Ala Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly
20 25 30

agt aga agt ttg gtt ggg gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg 144
Ser Arg Ser Leu Val Gly Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala
35 40 45

gtg tgg gtt cat tat tgt gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat 192
Val Trp Val His Tyr Cys Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr
50 55 60

82

ttt atg gtg ttg agg ggg aaa atg gac cag atg gta ctt ggt gaa gtt	240
Phe Met Val Leu Arg Gly Lys Met Asp Gln Met Val Leu Gly Glu Val	
65 70 75 80	
ggt ggc agt gtg tgg tgt ggc gtt gga tat atg gat atg gag aag atg	288
Gly Gly Ser Val Trp Cys Gly Val Gly Tyr Met Asp Met Glu Lys Met	
85 90 95	
ata cta ctc agc ttt gga gtg cat cgg tct gct cag gga acg ggg aag	336
Ile Leu Leu Ser Phe Gly Val His Arg Ser Ala Gln Gly Thr Gly Lys	
100 105 110	
gct ttc acc aac aac gtt acc aat cca cat ctc acg ctt cca cct cat	384
Ala Phe Thr Asn Asn Val Thr Asn Pro His Leu Thr Leu Pro Pro His	
115 120 125	
tct aca aaa aca aaa aaa cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac	432
Ser Thr Lys Thr Lys Lys Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His	
130 135 140	
acg acc ata gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt	480
Thr Thr Ile Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly	
145 150 155 160	
gga gac att tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc	528
Gly Asp Ile Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu	
165 170 175	
atg tat tcc tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg	576
Met Tyr Ser Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp	
180 185 190	
aaa cga tac ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg	624
Lys Arg Tyr Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val	
195 200 205	
gtt tat acg ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat	672
Val Tyr Thr Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His	
210 215 220	
gga gcg gat gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt	720
Gly Ala Asp Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys	
225 230 235 240	
gga gtg cag gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc	768
Gly Val Gln Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile	
245 250 255	
ttt tat aaa cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat	816
Phe Tyr Lys Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp	
260 265 270	
agc aag aag aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct	864
Ser Lys Lys Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala	
275 280 285	

83

atg aag gat ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg 912
 Met Lys Asp Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala
 290 295 300

aag gat gct gga aag ttg gtg gct acg aga gta agg tgt aag gtg taa 960
 Lys Asp Ala Gly Lys Leu Val Ala Thr Arg Val Arg Cys Lys Val
 305 310 315

<210> 44

<211> 319

<212> PRT

<213> Thalassiosira pseudonana

<400> 44

Met Val Leu Tyr Asn Val Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val
 1 5 10 15

Tyr Ala Ile Val Asp Ala Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly
 20 25 30

Ser Arg Ser Leu Val Gly Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala
 35 40 45

Val Trp Val His Tyr Cys Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr
 50 55 60

Phe Met Val Leu Arg Gly Lys Met Asp Gln Met Val Leu Gly Glu Val
 65 70 75 80

Gly Gly Ser Val Trp Cys Gly Val Gly Tyr Met Asp Met Glu Lys Met
 85 90 95

Ile Leu Leu Ser Phe Gly Val His Arg Ser Ala Gln Gly Thr Gly Lys
 100 105 110

Ala Phe Thr Asn Asn Val Thr Asn Pro His Leu Thr Leu Pro Pro His
 115 120 125

Ser Thr Lys Thr Lys Lys Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His
 130 135 140

Thr Thr Ile Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Asp Ile Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu
 165 170 175

Met Tyr Ser Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp
 180 185 190

Lys Arg Tyr Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val
 195 200 205

84

Val Tyr Thr Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His
210 215 220

Gly Ala Asp Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys
225 230 235 240

Gly Val Gln Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile
245 250 255

Phe Tyr Lys Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp
260 265 270

Ser Lys Lys Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala
275 280 285

Met Lys Asp Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala
290 295 300

Lys Asp Ala Gly Lys Leu Val Ala Thr Arg Val Arg Cys Lys Val
305 310 315

<210> 45

<211> 819

<212> DNA

<213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(819)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 45

atg gac gcc tac aac gct gca atg gat aag atc ggt gcc gcc atc atc 48
Met Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Met Asp Lys Ile Gly Ala Ala Ile Ile
1 5 10 15

gat tgg tct gat ccc gat gga aag ttc cgt gcc gat aga gag gac tgg 96
Asp Trp Ser Asp Pro Asp Gly Lys Phe Arg Ala Asp Arg Glu Asp Trp
20 25 30

tgg ctc tgc gac ttc cgt agc gcc atc acc atc gcc ctc atc tac atc 144
Trp Leu Cys Asp Phe Arg Ser Ala Ile Thr Ile Ala Leu Ile Tyr Ile
35 40 45

gcc ttc gtc atc ctc ggt tcc gcc gtc atg caa tcc ctc ccc gca atg 192
Ala Phe Val Ile Leu Gly Ser Ala Val Met Gln Ser Leu Pro Ala Met
50 55 60

85

gat ccc tac ccc atc aaa ttc ctc tac aac gtc tcc caa atc ttc ctt	240
Asp Pro Tyr Pro Ile Lys Phe Leu Tyr Asn Val Ser Gln Ile Phe Leu	
65 70 75 80	
tgt gcc tac atg act gtc gag gcg gga ttt ttg gcc tac cgc aat gga	288
Cys Ala Tyr Met Thr Val Glu Ala Gly Phe Leu Ala Tyr Arg Asn Gly	
85 90 95	
tat acc gtc atg cct tgc aat cat ttc aat gtg aat gat cct ccc gtg	336
Tyr Thr Val Met Pro Cys Asn His Phe Asn Val Asn Asp Pro Pro Val	
100 105 110	
gcg aat ctt ctt tgg ttg ttt tat att tcc aag gtg tgg gac ttt tgg	384
Ala Asn Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Ile Ser Lys Val Trp Asp Phe Trp	
115 120 125	
gat acc att ttc att gtg ttg ggg aag aag tgg cgt caa tta tct ttc	432
Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys Trp Arg Gln Leu Ser Phe	
130 135 140	
ttg cat gta tac cat cac acc acc atc ttt cta ttc tat tgg ctg aat	480
Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe Leu Phe Tyr Trp Leu Asn	
145 150 155 160	
gcc aat gtc ttg tac gat ggt gac atc ttc ctt acc atc ttg ctc aat	528
Ala Asn Val Leu Tyr Asp Gly Asp Ile Phe Leu Thr Ile Leu Leu Asn	
165 170 175	
gga ttc atc cac acg gtg atg tac acg tat tac ttc atc tgt atg cat	576
Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr Tyr Phe Ile Cys Met His	
180 185 190	
acc aaa gat tcc aag acg ggc aag agt ctt cct ata tgg tgg aag tgg	624
Thr Lys Asp Ser Lys Thr Gly Lys Ser Leu Pro Ile Trp Trp Lys Ser	
195 200 205	
agt ttg acg gcg ttt cag ttg ttg caa ttc act atc atg atg agt cag	672
Ser Leu Thr Ala Phe Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ile Met Met Ser Gln	
210 215 220	
gct acc tac ctt gtc ttc cac ggg tgt gat aag gtg tgg ctt cgt atc	720
Ala Thr Tyr Leu Val Phe His Gly Cys Asp Lys Val Ser Leu Arg Ile	
225 230 235 240	
acg att gtg tac ttt gtg tcc ctt ttg agt ttg ttc ttc ctt ttt gct	768
Thr Ile Val Tyr Phe Val Ser Leu Leu Ser Leu Phe Phe Leu Phe Ala	
245 250 255	
cag ttc ttt gtg caa tca tac atg gca ccc aaa aag aag aag agt gct	816
Gln Phe Phe Val Gln Ser Tyr Met Ala Pro Lys Lys Lys Lys Ser Ala	
260 265 270	
tag	819

86

<211> 272

<212> PRT

<213> Thalassiosira pseudonana

<400> 46

Met Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Met Asp Lys Ile Gly Ala Ala Ile Ile
1 5 10 15

Asp Trp Ser Asp Pro Asp Gly Lys Phe Arg Ala Asp Arg Glu Asp Trp
20 25 30

Trp Leu Cys Asp Phe Arg Ser Ala Ile Thr Ile Ala Leu Ile Tyr Ile
35 40 45

Ala Phe Val Ile Leu Gly Ser Ala Val Met Gln Ser Leu Pro Ala Met
50 55 60

Asp Pro Tyr Pro Ile Lys Phe Leu Tyr Asn Val Ser Gln Ile Phe Leu
65 70 75 80

Cys Ala Tyr Met Thr Val Glu Ala Gly Phe Leu Ala Tyr Arg Asn Gly
85 90 95

Tyr Thr Val Met Pro Cys Asn His Phe Asn Val Asn Asp Pro Pro Val
100 105 110

Ala Asn Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Ile Ser Lys Val Trp Asp Phe Trp
115 120 125

Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys Trp Arg Gln Leu Ser Phe
130 135 140

Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe Leu Phe Tyr Trp Leu Asn
145 150 155 160

Ala Asn Val Leu Tyr Asp Gly Asp Ile Phe Leu Thr Ile Leu Leu Asn
165 170 175

Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr Tyr Phe Ile Cys Met His
180 185 190

Thr Lys Asp Ser Lys Thr Gly Lys Ser Leu Pro Ile Trp Trp Lys Ser
195 200 205

Ser Leu Thr Ala Phe Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ile Met Met Ser Gln
210 215 220

Ala Thr Tyr Leu Val Phe His Gly Cys Asp Lys Val Ser Leu Arg Ile
225 230 235 240

Thr Ile Val Tyr Phe Val Ser Leu Leu Ser Leu Phe Phe Leu Phe Ala
245 250 255

87

Gln Phe Phe Val Gln Ser Tyr Met Ala Pro Lys Lys Lys Lys Ser Ala
 260 265 270

<210> 47

<211> 936

<212> DNA

<213> Crypthecodinium cohnii

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(936)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 47

atg tct gcc ttc atg act ctc cca cag gct ctc tcc gat gtg acc tcg 48
 Met Ser Ala Phe Met Thr Leu Pro Gln Ala Leu Ser Asp Val Thr Ser
 1 5 10 15

gcc ttg gtc acg ctg gga aag gat gtc tcc agc cct tca gct ttt caa 96
 Ala Leu Val Thr Leu Gly Lys Asp Val Ser Ser Pro Ser Ala Phe Gln
 20 25 30

gct gtc act ggc ttc tgc agg gag cag tgg ggg att ccg aca gta ttc 144
 Ala Val Thr Gly Phe Cys Arg Glu Gln Trp Gly Ile Pro Thr Val Phe
 35 40 45

tgc ctg ggc tac ttg gcc atg gtc tac gcg gcc aga aga ccc ctc ccg 192
 Cys Leu Gly Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Ala Arg Arg Pro Leu Pro
 50 55 60

cag cac ggc tac atg gtt gcg gtg gac cgt tgc ttc gct gct tgg aac 240
 Gln His Gly Tyr Met Val Ala Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn
 65 70 75 80

ttg gct ctc tct gtc ttc agc act tgg ggc ttc tac cac atg gct gtc 288
 Leu Ala Leu Ser Val Phe Ser Thr Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val
 85 90 95

ggg ctc tac aac atg aca gag acg agg ggc ttg caa ttc acc atc tgc 336
 Gly Leu Tyr Asn Met Thr Glu Thr Arg Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys
 100 105 110

ggt tcg act ggg gag ctc gtg cag aac ctt cag act ggc cca acc gct 384
 Gly Ser Thr Gly Glu Leu Val Gln Asn Leu Gln Thr Gly Pro Thr Ala
 115 120 125

ctg gcg ctc tgc ctc ttc tgc ttc agc aag atc ccc gag ttg atg gac 432
 Leu Ala Leu Cys Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Met Asp
 130 135 140

88

acg gtg ttt ctc atc ctg aag gcc aag aag gtc cgc ttc ttg cag tgg	480
Thr Val Phe Leu Ile Leu Lys Ala Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp	
145 150 155 160	
tac cac cat gcc aca gtc atg ctc ttc tgt tgg ctc gcc ctc gcg acg	528
Tyr His His Ala Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Leu Ala Leu Ala Thr	
165 170 175	
gag tac act cct ggc ttg tgg ttt gcg gcg acg aac tac ttc gtg cac	576
Glu Tyr Thr Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His	
180 185 190	
tcc atc atg tac atg tac ttc ttc ctc atg acc ttc aag tcg gcc gcg	624
Ser Ile Met Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Ser Ala Ala	
195 200 205	
aag gtg gtg aag ccc atc gcc cct ctc atc aca gtt atc cag att gct	672
Lys Val Val Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Val Ile Gln Ile Ala	
210 215 220	
cag atg gtc tgg ggc ctc atc gtc aac ggc atc gcc atc acc acc ttc	720
Gln Met Val Trp Gly Leu Ile Val Asn Gly Ile Ala Ile Thr Thr Phe	
225 230 235 240	
ttc acg act ggt gcc tgc cag atc cag tct gtg act gtg tat tcg gcc	768
Phe Thr Thr Gly Ala Cys Gln Ile Gln Ser Val Thr Val Tyr Ser Ala	
245 250 255	
atc atc atg tac gct tcg tac ttc tac ctg ttc tcc cag ctc ttc ttc	816
Ile Ile Met Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Ser Gln Leu Phe Phe	
260 265 270	
gag gcc cat ggt gcc gct ggc aag aac aag aag aag ttg acc cgc gag	864
Glu Ala His Gly Ala Ala Gly Lys Asn Lys Lys Lys Leu Thr Arg Glu	
275 280 285	
ctc tct cga aaa atc tcg gag gct ctc ctg aac acc ggt gac gag gtt	912
Leu Ser Arg Lys Ile Ser Glu Ala Leu Leu Asn Thr Gly Asp Glu Val	
290 295 300	
tcc aag cac ctg aag gtg aat tga	936
Ser Lys His Leu Lys Val Asn	
305 310	
<210> 48	
<211> 311	
<212> PRT	
<213> Crypthecodinium cohnii	
<400> 48	

Met	Ser	Ala	Phe	Met	Thr	Leu	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Asp	Val	Thr	Ser		
1				5						10						15	
Ala	Leu	Val	Thr	Leu	Gly	Lys	Asp	Val	Ser	Ser	Pro	Ser	Ala	Phe	Gln		
			20					25					30				
Ala	Val	Thr	Gly	Phe	Cys	Arg	Glu	Gln	Trp	Gly	Ile	Pro	Thr	Val	Phe		
		35					40					45					
Cys	Leu	Gly	Tyr	Leu	Ala	Met	Val	Tyr	Ala	Ala	Arg	Arg	Pro	Leu	Pro		
	50					55					60						
Gln	His	Gly	Tyr	Met	Val	Ala	Val	Asp	Arg	Cys	Phe	Ala	Ala	Trp	Asn		
65					70					75					80		
Leu	Ala	Leu	Ser	Val	Phe	Ser	Thr	Trp	Gly	Phe	Tyr	His	Met	Ala	Val		
				85					90					95			
Gly	Leu	Tyr	Asn	Met	Thr	Glu	Thr	Arg	Gly	Leu	Gln	Phe	Thr	Ile	Cys		
			100					105					110				
Gly	Ser	Thr	Gly	Glu	Leu	Val	Gln	Asn	Leu	Gln	Thr	Gly	Pro	Thr	Ala		
		115					120					125					
Leu	Ala	Leu	Cys	Leu	Phe	Cys	Phe	Ser	Lys	Ile	Pro	Glu	Leu	Met	Asp		
	130					135					140						
Thr	Val	Phe	Leu	Ile	Leu	Lys	Ala	Lys	Lys	Val	Arg	Phe	Leu	Gln	Trp		
145				150						155					160		
Tyr	His	His	Ala	Thr	Val	Met	Leu	Phe	Cys	Trp	Leu	Ala	Leu	Ala	Thr		
			165						170					175			
Glu	Tyr	Thr	Pro	Gly	Leu	Trp	Phe	Ala	Ala	Thr	Asn	Tyr	Phe	Val	His		
		180						185					190				
Ser	Ile	Met	Tyr	Met	Tyr	Phe	Phe	Leu	Met	Thr	Phe	Lys	Ser	Ala	Ala		
		195					200					205					
Lys	Val	Val	Lys	Pro	Ile	Ala	Pro	Leu	Ile	Thr	Val	Ile	Gln	Ile	Ala		
	210					215					220						
Gln	Met	Val	Trp	Gly	Leu	Ile	Val	Asn	Gly	Ile	Ala	Ile	Thr	Thr	Phe		
225					230					235					240		
Phe	Thr	Thr	Gly	Ala	Cys	Gln	Ile	Gln	Ser	Val	Thr	Val	Tyr	Ser	Ala		
			245						250					255			
Ile	Ile	Met	Tyr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Tyr	Leu	Phe	Ser	Gln	Leu	Phe	Phe		
		260						265					270				
Glu	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Gly	Lys	Asn	Lys	Lys	Lys	Leu	Thr	Arg	Glu		
		275					280					285					
Leu	Ser	Arg	Lys	Ile	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Asn	Thr	Gly	Asp	Glu	Val		
		290				295					300						

Ser Lys His Leu Lys Val Asn
305 310

<210> 49

<211> 927

<212> DNA

<213> Crypthecodinium cohnii

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(927)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 49

atg gct tcc tac caa caa gca ttc tcc gaa ttg gct aga gct ttg tcc 48
Met Ala Ser Tyr Gln Gln Ala Phe Ser Glu Leu Ala Arg Ala Leu Ser
1 5 10 15

act ttg aac cac gac ttc tcc agc gtc gag cca ttc aaa gtc gtg acg 96
Thr Leu Asn His Asp Phe Ser Ser Val Glu Pro Phe Lys Val Val Thr
20 25 30

cag ttc tgc agg gac cag tgg gcg atc ccg aca gtc ttt tgc atc ggt 144
Gln Phe Cys Arg Asp Gln Trp Ala Ile Pro Thr Val Phe Cys Ile Gly
35 40 45

tac ttg gca atg gtc tac gcc acg cga aga cct atc gcg aag cac ccc 192
Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Thr Arg Arg Pro Ile Ala Lys His Pro
50 55 60

tac atg tct ctc gtg gat cgc tgc ttt gcg gcc tgg aac ttg ggc ctc 240
Tyr Met Ser Leu Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn Leu Gly Leu
65 70 75 80

tgc ctc ttc agt tgc tgg ggc ttc tac cac atg gca gtg gga ctc tcc 288
Ser Leu Phe Ser Cys Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val Gly Leu Ser
85 90 95

cac acc act tgg aat ttc ggg ctc cag ttc acc atc tgc ggc agc acc 336
His Thr Thr Trp Asn Phe Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys Gly Ser Thr
100 105 110

acg gag ctt gtg aat ggc ttc cag aag ggc ccg gcg gcc ctc gcc ctc 384
Thr Glu Leu Val Asn Gly Phe Gln Lys Gly Pro Ala Ala Leu Ala Leu
115 120 125

91

atc ctg ttc tgc ttc tcc aag atc ccg gag ttg ggc gac acc gtc ttc Ile Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Gly Asp Thr Val Phe 130 135 140	432
ttg atc ttg aag gga aag aag gtc cgc ttc ttg cag tgg tac cac cac Leu Ile Leu Lys Gly Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp Tyr His His 145 150 155 160	480
acg acc gtg atg ctc ttc tgt tgg atg gcc ttg gcg act gag tac act Thr Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Met Ala Leu Ala Thr Glu Tyr Thr 165 170 175	528
cct gga ttg tgg ttc gcg gcc acg aac tac ttc gtg cac tcc atc atg Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His Ser Ile Met 180 185 190	576
tac atg tac ttc ttc ctc atg acc ttc aag acg gcc gcc ggc atc atc Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Thr Ala Ala Gly Ile Ile 195 200 205	624
aag ccc atc gcg cct ctc atc acc atc atc cag atc tcc cag atg gtc Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Ile Ile Gln Ile Ser Gln Met Val 210 215 220	672
tgg ggc ttg gtc gtg aac gcc atc gcc gtc ggc acc ttc ttc acc aca Trp Gly Leu Val Val Asn Ala Ile Ala Val Gly Thr Phe Phe Thr Thr 225 230 235 240	720
ggc aac tgc cag atc cag gca gtg aca gtc tac tcc gcc atc gtg atg Gly Asn Cys Gln Ile Gln Ala Val Thr Val Tyr Ser Ala Ile Val Met 245 250 255	768
tac gcc tcc tac ttc tac ctc ttc ggc cag ctc ttc ttc gag gcc cag Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Gly Gln Leu Phe Phe Glu Ala Gln 260 265 270	816
ggt tcg gct gga aag gac aag aag aag ttg gcc cga gag ctg agc cga Gly Ser Ala Gly Lys Asp Lys Lys Lys Leu Ala Arg Glu Leu Ser Arg 275 280 285	864
aag gtc tcg cgg gct ctc aca gca acg ggc gaa gag gtg tcg aag cac Lys Val Ser Arg Ala Leu Thr Ala Thr Gly Glu Glu Val Ser Lys His 290 295 300	912
atg aag gtg aat tga Met Lys Val Asn 305	927
<210> 50	
<211> 308	
<212> PRT	
<213> Crypthecodinium cohnii	

92

<400> 50

Met	Ala	Ser	Tyr	Gln	Gln	Ala	Phe	Ser	Glu	Leu	Ala	Arg	Ala	Leu	Ser	1	5	10	15
Thr	Leu	Asn	His	Asp	Phe	Ser	Ser	Val	Glu	Pro	Phe	Lys	Val	Val	Thr	20	25	30	
Gln	Phe	Cys	Arg	Asp	Gln	Trp	Ala	Ile	Pro	Thr	Val	Phe	Cys	Ile	Gly	35	40	45	
Tyr	Leu	Ala	Met	Val	Tyr	Ala	Thr	Arg	Arg	Pro	Ile	Ala	Lys	His	Pro	50	55	60	
Tyr	Met	Ser	Leu	Val	Asp	Arg	Cys	Phe	Ala	Ala	Trp	Asn	Leu	Gly	Leu	65	70	75	80
Ser	Leu	Phe	Ser	Cys	Trp	Gly	Phe	Tyr	His	Met	Ala	Val	Gly	Leu	Ser	85	90	95	
His	Thr	Thr	Trp	Asn	Phe	Gly	Leu	Gln	Phe	Thr	Ile	Cys	Gly	Ser	Thr	100	105	110	
Thr	Glu	Leu	Val	Asn	Gly	Phe	Gln	Lys	Gly	Pro	Ala	Ala	Leu	Ala	Leu	115	120	125	
Ile	Leu	Phe	Cys	Phe	Ser	Lys	Ile	Pro	Glu	Leu	Gly	Asp	Thr	Val	Phe	130	135	140	
Leu	Ile	Leu	Lys	Gly	Lys	Lys	Val	Arg	Phe	Leu	Gln	Trp	Tyr	His	His	145	150	155	160
Thr	Thr	Val	Met	Leu	Phe	Cys	Trp	Met	Ala	Leu	Ala	Thr	Glu	Tyr	Thr	165	170	175	
Pro	Gly	Leu	Trp	Phe	Ala	Ala	Thr	Asn	Tyr	Phe	Val	His	Ser	Ile	Met	180	185	190	
Tyr	Met	Tyr	Phe	Phe	Leu	Met	Thr	Phe	Lys	Thr	Ala	Ala	Gly	Ile	Ile	195	200	205	
Lys	Pro	Ile	Ala	Pro	Leu	Ile	Thr	Ile	Ile	Gln	Ile	Ser	Gln	Met	Val	210	215	220	
Trp	Gly	Leu	Val	Val	Asn	Ala	Ile	Ala	Val	Gly	Thr	Phe	Phe	Thr	Thr	225	230	235	240
Gly	Asn	Cys	Gln	Ile	Gln	Ala	Val	Thr	Val	Tyr	Ser	Ala	Ile	Val	Met	245	250	255	
Tyr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Tyr	Leu	Phe	Gly	Gln	Leu	Phe	Phe	Glu	Ala	Gln	260	265	270	
Gly	Ser	Ala	Gly	Lys	Asp	Lys	Lys	Lys	Leu	Ala	Arg	Glu	Leu	Ser	Arg	275	280	285	

93

Lys Val Ser Arg Ala Leu Thr Ala Thr Gly Glu Glu Val Ser Lys His
 290 295 300

Met Lys Val Asn
 305

<210> 51

<211> 795

<212> DNA

<213> Oncorhynchus mykiss

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(795)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 51

atg gct tca aca tgg caa agc gtt cag tcc atg cgc cag tgg att tta 48
 Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu
 1 5 10 15

gag aat gga gat aaa agg aca gac cca tgg cta ctg gtc tac tcc cct 96
 Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro
 20 25 30

atg cca gtg gcc att ata ttc ctc ctc tat ctt ggt gtg gtc tgg gct 144
 Met Pro Val Ala Ile Ile Phe Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala
 35 40 45

ggg ccc aag ctg atg aaa cgc agg gaa cca gtt gat ctc aag gct gta 192
 Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val
 50 55 60

ctc att gtc tac aac ttc gcc atg gtc tgc ctg tct gtc tac atg ttc 240
 Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe
 65 70 75 80

cat gag ttc ttg gtc acg tcc ttg ctg tct aac tac agt tac ctg tgt 288
 His Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys
 85 90 95

caa cct gtg gat tac agc act agt cca ctg gcg atg agg atg gcc aaa 336
 Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys
 100 105 110

gta tgc tgg tgg ttt ttc ttc tcc aag gtc ata gaa ttg gct gac acg 384
 Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr
 115 120 125

94

gtg ttc ttc atc ctg agg aag aag aac agt cag ctg act ttc ctg cat 432
Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His
130 135 140

gtc tat cac cat ggc acc atg atc ttc aac tgg tgg gca ggg gtc aag 480
Val Tyr His His Gly Thr Met Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys
145 150 155 160

tat ctg gct gga ggc caa tgc ttc ttc atc ggc ctg ctc aat acc ttt 528
Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe
165 170 175

gtg cac atc gtg atg tac tct tac tac gga ctg gct gcc ctg ggg cct 576
Val His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro
180 185 190

cac acg cag aag tac tta tgg tgg aag cgc tat ctg acc tca ctg cag 624
His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln
195 200 205

ctg ctc cag ttt gtc ctg ttg acc act cac act ggc tac aac ctc ttc 672
Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe
210 215 220

act gag tgt gac ttc ccg gac tcc atg aac gct gtg gtg ttt gcc tac 720
Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr
225 230 235 240

tgt gtc agt ctc att gct ctc ttc agc aac ttc tac tat cag agc tac 768
Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr
245 250 255

ctc aac agg aag agc aag aag aca taa 795
Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys Thr
260

<210> 52

<211> 264

<212> PRT

<213> Oncorhynchus mykiss

<400> 52

Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu
1 5 10 15

Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro
20 25 30

Met Pro Val Ala Ile Ile Phe Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala
35 40 45

95

Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val
50 55 60

Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe
65 70 75 80

His Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys
85 90 95

Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys
100 105 110

Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr
115 120 125

Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His
130 135 140

Val Tyr His His Gly Thr Met Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys
145 150 155 160

Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe
165 170 175

Val His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro
180 185 190

His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln
195 200 205

Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe
210 215 220

Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr
225 230 235 240

Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr
245 250 255

Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys Thr
260

<210> 53

<211> 885

<212> DNA

<213> Oncorhynchus mykiss

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(885)

96

<223> Delta-5-Elongase

<400> 53

atg gag act ttt aat tat aaa cta aac atg tac ata gac tca tgg atg	48
Met Glu Thr Phe Asn Tyr Lys Leu Asn Met Tyr Ile Asp Ser Trp Met	
1 5 10 15	
ggt ccc aga gat gag cgg gta cag gga tgg ctg ctt ctg gac aac tac	96
Gly Pro Arg Asp Glu Arg Val Gln Gly Trp Leu Leu Leu Asp Asn Tyr	
20 25 30	
cct cca acc ttt gca cta aca gtc atg tac ctg ctg atc gta tgg atg	144
Pro Pro Thr Phe Ala Leu Thr Val Met Tyr Leu Leu Ile Val Trp Met	
35 40 45	
ggg ccc aag tac atg aga cac aga cag ccg gtg tct tgc cgg ggt ctc	192
Gly Pro Lys Tyr Met Arg His Arg Gln Pro Val Ser Cys Arg Gly Leu	
50 55 60	
ctc ttg gtc tac aat ctg ggc ctc acg atc ttg tcc ttc tat atg ttc	240
Leu Leu Val Tyr Asn Leu Gly Leu Thr Ile Leu Ser Phe Tyr Met Phe	
65 70 75 80	
tat gag atg gtg tct gct gtg tgg cac ggg gat tat aac ttc ttt tgc	288
Tyr Glu Met Val Ser Ala Val Trp His Gly Asp Tyr Asn Phe Phe Cys	
85 90 95	
caa gac aca cac agt gca gga gaa acc gat acc aag atc ata aat gtg	336
Gln Asp Thr His Ser Ala Gly Glu Thr Asp Thr Lys Ile Ile Asn Val	
100 105 110	
ctg tgg tgg tac tac ttc tcc aag ctc ata gag ttt atg gat acc ttc	384
Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser Lys Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe	
115 120 125	
ttc ttc atc ctg cgg aag aac aac cat caa atc acg ttt ctg cac atc	432
Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile	
130 135 140	
tac cac cat gct agc atg ctc aac atc tgg tgg ttc gtc atg aac tgg	480
Tyr His His Ala Ser Met Leu Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp	
145 150 155 160	
gtg ccc tgt ggt cac tcc tac ttt ggt gcc tcc ctg aac agc ttc atc	528
Val Pro Cys Gly His Ser Tyr Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile	
165 170 175	
cat gtc ctg atg tac tct tac tat ggg ctc tct gct gtc ccg gcc ttg	576
His Val Leu Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu	
180 185 190	
cgg ccc tat cta tgg tgg aag aaa tac atc aca caa gta cag ctg att	624
Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile	
195 200 205	

97

cag ttc ttt ttg acc atg tcc cag acg ata tgt gca gtc att tgg cca 672
 Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro
 210 215 220

tgt gat ttc ccc aga ggg tgg ctg tat ttc cag ata ttc tat gtc atc 720
 Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile
 225 230 235 240

aca ctt att gcc ctt ttc tca aac ttc tac att cag act tac aag aaa 768
 Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys
 245 250 255

cac ctt gtt tca caa aag aag gag tat cat cag aat ggc tct gtt gct 816
 His Leu Val Ser Gln Lys Lys Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala
 260 265 270

tca ttg aat ggc cat gtg aat ggg gtg aca ccc acg gaa acc att aca 864
 Ser Leu Asn Gly His Val Asn Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr
 275 280 285

cac agg aaa gtg agg ggg gac 885
 His Arg Lys Val Arg Gly Asp
 290 295

<210> 54

<211> 295

<212> PRT

<213> Oncorhynchus mykiss

<400> 54

Met Glu Thr Phe Asn Tyr Lys Leu Asn Met Tyr Ile Asp Ser Trp Met
 1 5 10 15

Gly Pro Arg Asp Glu Arg Val Gln Gly Trp Leu Leu Leu Asp Asn Tyr
 20 25 30

Pro Pro Thr Phe Ala Leu Thr Val Met Tyr Leu Leu Ile Val Trp Met
 35 40 45

Gly Pro Lys Tyr Met Arg His Arg Gln Pro Val Ser Cys Arg Gly Leu
 50 55 60

Leu Leu Val Tyr Asn Leu Gly Leu Thr Ile Leu Ser Phe Tyr Met Phe
 65 70 75 80

Tyr Glu Met Val Ser Ala Val Trp His Gly Asp Tyr Asn Phe Phe Cys
 85 90 95

Gln Asp Thr His Ser Ala Gly Glu Thr Asp Thr Lys Ile Ile Asn Val
 100 105 110

98

Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser Lys Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe
115 120 125

Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile
130 135 140

Tyr His His Ala Ser Met Leu Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp
145 150 155 160

Val Pro Cys Gly His Ser Tyr Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile
165 170 175

His Val Leu Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu
180 185 190

Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile
195 200 205

Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro
210 215 220

Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile
225 230 235 240

Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys
245 250 255

His Leu Val Ser Gln Lys Lys Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala
260 265 270

Ser Leu Asn Gly His Val Asn Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr
275 280 285

His Arg Lys Val Arg Gly Asp
290 295

<210> 55

<211> 6753

<212> DNA

<213> Oncorhynchus mykiss

<220>

<221> CDS

<222> (513)..(1397)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 55

acggattaga agccgccgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt

60

cctcgtcctc accggtcgcg ttcctgaaac gcagatgtgc ctgcgcgccgc actgctccga	120
acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac	180
ctggcccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga	240
ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat	300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcatt aaccacttta actaatactt tcaacatttt	360
cggttttgtat tacttcttat tcaaagttaa taaaagtatc aacaaaaaat tgttaatat	420
cctctatact ttaacgtcaa ggagaaaaaa ccccgatcg gactactagc agctgtaata	480
cgactcacta tagggaatat taagcttaca ta atg gag act ttt aat tat aaa	533
Met Glu Thr Phe Asn Tyr Lys	
1 5	
cta aac atg tac ata gac tca tgg atg ggt ccc aga gat gag cgg gta	581
Leu Asn Met Tyr Ile Asp Ser Trp Met Gly Pro Arg Asp Glu Arg Val	
10 15 20	
cag gga tgg ctg ctt ctg gac aac tac cct cca acc ttt gca cta aca	629
Gln Gly Trp Leu Leu Leu Asp Asn Tyr Pro Pro Thr Phe Ala Leu Thr	
25 30 35	
gtc atg tac ctg ctg atc gta tgg atg ggg ccc aag tac atg aga cac	677
Val Met Tyr Leu Leu Ile Val Trp Met Gly Pro Lys Tyr Met Arg His	
40 45 50 55	
aga cag ccg gtg tct tgc cgg ggt ctc ctc ttg gtc tac aat ctg ggc	725
Arg Gln Pro Val Ser Cys Arg Gly Leu Leu Leu Val Tyr Asn Leu Gly	
60 65 70	
ctc acg atc ttg tcc ttc tat atg ttc tat gag atg gtg tct gct gtg	773
Leu Thr Ile Leu Ser Phe Tyr Met Phe Tyr Glu Met Val Ser Ala Val	
75 80 85	
tgg cac ggg gat tat aac ttc ttt tgc caa gac aca cac agt gca gga	821
Trp His Gly Asp Tyr Asn Phe Phe Cys Gln Asp Thr His Ser Ala Gly	
90 95 100	
gaa acc gat acc aag atc ata aat gtg ctg tgg tgg tac tac ttc tcc	869
Glu Thr Asp Thr Lys Ile Ile Asn Val Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser	
105 110 115	
aag ctc ata gag ttt atg gat acc ttc ttc ttc atc ctg cgg aag aac	917
Lys Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn	
120 125 130 135	
aac cat caa atc acg ttt ctg cac atc tac cac cat gct agc atg ctc	965
Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile Tyr His His Ala Ser Met Leu	
140 145 150	

100

aac atc tgg tgg ttc gtc atg aac tgg gtg ccc tgt ggt cac tcc tac 1013
Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp Val Pro Cys Gly His Ser Tyr
155 160 165

ttt ggt gcc tcc ctg aac agc ttc atc cat gtc ctg atg tac tct tac 1061
Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile His Val Leu Met Tyr Ser Tyr
170 175 180

tat ggg ctc tct gct gtc ccg gcc ttg cgg ccc tat cta tgg tgg aag 1109
Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys
185 190 195

aaa tac atc aca caa gta cag ctg att cag ttc ttt ttg acc atg tcc 1157
Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser
200 205 210 215

cag acg ata tgt gca gtc att tgg cca tgt gat ttc ccc aga ggg tgg 1205
Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp
220 225 230

ctg tat ttc cag ata ttc tat gtc atc aca ctt att gcc ctt ttc tca 1253
Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser
235 240 245

aac ttc tac att cag act tac aag aaa cac ctt gtt tca caa aag aag 1301
Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys His Leu Val Ser Gln Lys Lys
250 255 260

gag tat cat cag aat ggc tct gtt gct tca ttg aat ggc cat gtg aat 1349
Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala Ser Leu Asn Gly His Val Asn
265 270 275

ggg gtg aca ccc acg gaa acc att aca cac agg aaa gtg agg ggg gac 1397
Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr His Arg Lys Val Arg Gly Asp
280 285 290 295

tgaaggatcc actagtaacg gccgccagtg tgctggaatt ctgcagatat ccagcacagt 1457

ggcggccgct cgagtctaga gggcccttcg aaggtaagcc tatccctaac cctctcctcg 1517

gtctcgattc tacgcgtacc ggtcatcatc accatcacca ttgagtttaa acccgctgat 1577

cctagagggc cgcatcatgt aattagttat gtcacgctta cattcacgcc ctccccccac 1637

atccgctcta accgaaaagg aaggagttag acaacctgaa gtctaggtcc ctattttattt 1697

ttttatagtt atgttagtat taagaacggt atttatatattt caaatttttc ttttttttct 1757

gtacagacgc gtgtacgcat gtaacattat actgaaaacc ttgcttgaga aggttttggg 1817

acgctcgaag gctttaattt gcaagctgcg gccctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg 1877

gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttccg cgctcactga ctcgctgcgc 1937

tcggtcgttc ggctgcggcg agcgggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc 1997

101

acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaagcccagg 2057
aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat 2117
cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaacccga caggactata aagataccag 2177
gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga 2237
tacctgtccg cctttctccc ttccgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg 2297
tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt 2357
cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac 2417
gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc 2477
gggtctacag agttcttgaa gtgggtggcct aactacggct acactagaag gacagtattt 2537
ggatatctgc ctctgctgaa gccagttacc ttccgaaaaa gagttggtag ctcttgatcc 2597
ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgggtgt tttttgttt gcaagcagca gattacgcgc 2657
agaaaaaaag gatctcaaga agatccttg atcttttcta cgggggtctga cgctcagtg 2717
aacgaaaact cacgttaagg gattttggc atgagattat caaaaaggat cttcacctag 2777
atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg 2837
tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt 2897
tcatccatag ttgcctgact ccccgctgtg tagataacta cgatacggga gcgcttacca 2957
tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga gaccacgct caccggctcc agatttatca 3017
gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc 3077
tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt 3137
ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtgggtg cagctcgtc gtttggtatg 3197
gcttcattca gtcccggttc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgttggtc 3257
aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg atcgttgctc gaagtaagtt ggccgcagtg 3317
ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga 3377
tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga 3437
ccgagttgct cttgcccggc gtcaacacgg gataataccg cgccacatag cagaacttta 3497
aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg 3557
ttgagatcca gttcgatga acccactcgt gcaccaact gatcttcagc atcttttact 3617
ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaaggaata 3677

102

agggcgacac ggaaatgttg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt	3737
tatcaggggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaacia	3797
ataggggttc cgcgacacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt	3857
atcatgacat taacctataa aaatagggcg atcacgaggc cctttcgtct tcaagaaatt	3917
cggtcgaaaa aagaaaagga gaggggccaag agggagggca ttgggtgacta ttgagcacgt	3977
gagtatacgt gattaagcac acaaaggcag cttggagtat gtctgttatt aatttcacag	4037
gtagttcttg tccattgggtg aaagtttgcg gcttgacagag cacagaggcc gcagaatgtg	4097
ctctagattc cgatgctgac ttgctgggta ttatatgtgt gcccaataga aagagaacia	4157
ttgacccgggt tattgcaagg aaaatttcaa gtcttgtaaa agcatataaa aatagttcag	4217
gcactccgaa atacttggtt ggcgtgtttc gtaatcaacc taaggaggat gttttggctc	4277
tggccaatga ttacggcatt gatatcgctc aactgcacgg agatgagtcg tggcaagaat	4337
accaagagtt cctcggtttg ccagttatta aaagactcgt atttccaaaa gactgcaaca	4397
tactactcag tgcagcttca cagaaacctc attcgtttat tcccttggtt gattcagaag	4457
caggtgggac aggtgaactt ttggattgga actcgatttc tgactgggtt ggaaggcaag	4517
agagccccga gagcttacat tttatgttag ctggtggact gacgccagaa aatgttggtg	4577
atgcgcttag attaaatggc gttattgggtg ttgatgtaag cggaggtgtg gagacaaatg	4637
gtgtaaaaga ctctaacaaa atagcaaatt tcgtcaaaaa tgctaagaaa taggttatta	4697
ctgagtagta tttatttaag tattgtttgt gcacttgccc tagcttatcg atgataagct	4757
gtcaaagatg agaattaatt ccacggacta tagactatac tagatactcc gtctactgta	4817
cgatacactt ccgctcaggt ccttgctcct taacgaggcc ttaccactct tttgttactc	4877
tattgatcca gctcagcaaa ggcagtgtga tctaagattc tatcttcgcg atgtagtaaa	4937
actagctaga ccgagaaaga gactagaaat gcaaaaggca cttctacaat ggctgccatc	4997
attattatcc gatgtgacgc tgcagcttct caatgatatt cgaatacgtc ttgaggagat	5057
acagccta atccgacaaa ctgttttaca gatttacgat cgtacttggt acccatcatt	5117
gaattttgaa catccgaacc tgggagtttt ccctgaaaca gatagtatat ttgaacctgt	5177
ataataatat atagtctagc gctttacgga agacaatgta tgtatttcgg ttcttgaga	5237
aactattgca tctattgcat aggtaatctt gcacgtcgca tccccgggtc attttctgcg	5297
tttccatctt gcacttcaat agcatatctt tgttaacgaa gcattctgtgc ttcattttgt	5357

103

agaacaaaaa tgcaacgcga gagcgctaata ttttcaaaca aagaatctga gctgcatttt 5417
tacagaacag aaatgcaacg cgaaagcgct attttaccac cgaagaatct gtgcttcatt 5477
tttgtaaaac aaaaatgcaa cgcgacgaga gcgctaattt ttcaaacaaa gaatctgagc 5537
tgcatttttta cagaacagaa atgcaacgcg agagcgctat ttaccaaca aagaatctat 5597
acttcttttt tggtctacaa aaatgcatcc cgagagcgct atttttctaa caaagcatct 5657
tagattactt tttttctcct ttgtgcgctc tataatgcag tctcttgata actttttgca 5717
ctgtaggtcc gttaagggtta gaagaaggct actttgggtg ctattttctc ttccataaaa 5777
aaagcctgac tccacttccc gcgtttactg attactagcg aagctgcggg tgcatttttt 5837
caagataaag gcacccccga ttatattcta taccgatgtg gattgcgcat actttgtgaa 5897
cagaaagtga tagcggtgat gattcttcat tggtcagaaa attatgaacg gtttcttcta 5957
ttttgtctct atatactacg tataggaaat gtttacattt tcgtattgtt ttcgattcac 6017
tctatgaata gttcttacta caattttttt gtctaaagag taataactaga gataaacata 6077
aaaaatgtag aggtcgagtt tagatgcaag ttcaaggagc gaaagggtgga tgggtagggt 6137
atatagggat atagcacaga gatatatagc aaagagatac ttttgagcaa tgtttgtgga 6197
agcggatttc gcaatgggaa gctccacccc ggttgataat cagaaaagcc ccaaaaacag 6257
gaagattgta taagcaaata tttaaattgt aaacgttaat attttgtaa aattcgcggt 6317
aaatttttgt taaatcagct ctttttttaa cgaatagccc gaaatcgga aaatccctta 6377
taaataaaaa gaatagaccg agatagggtt gagtgttgtt ccagtttcca acaagagtcc 6437
actattaaag aacgtggact ccaacgtcaa agggcgaaaa agggctctatc agggcgatgg 6497
cccactacgt gaaccatcac cctaataaag ttttttgggg tcgaggtgcc gtaaagcagt 6557
aaatcggaag ggtaaacgga tgccccatt tagagcttga cggggaaagc cggcgaacgt 6617
ggcgagaaaag gaagggaaga aagcgaaagg agcgggggct agggcggtgg gaagtgtagg 6677
ggtcacgctg ggcgtaacca ccacacccgc cgcgttaaat ggggcgctac agggcgcggtg 6737
gggatgatcc actagt 6753

<210> 56

<211> 295

<212> PRT

<213> Oncorhynchus mykiss

104

<400> 56

Met	Glu	Thr	Phe	Asn	Tyr	Lys	Leu	Asn	Met	Tyr	Ile	Asp	Ser	Trp	Met	1	5	10	15
Gly	Pro	Arg	Asp	Glu	Arg	Val	Gln	Gly	Trp	Leu	Leu	Leu	Asp	Asn	Tyr	20	25	30	
Pro	Pro	Thr	Phe	Ala	Leu	Thr	Val	Met	Tyr	Leu	Leu	Ile	Val	Trp	Met	35	40	45	
Gly	Pro	Lys	Tyr	Met	Arg	His	Arg	Gln	Pro	Val	Ser	Cys	Arg	Gly	Leu	50	55	60	
Leu	Leu	Val	Tyr	Asn	Leu	Gly	Leu	Thr	Ile	Leu	Ser	Phe	Tyr	Met	Phe	65	70	75	80
Tyr	Glu	Met	Val	Ser	Ala	Val	Trp	His	Gly	Asp	Tyr	Asn	Phe	Phe	Cys	85	90	95	
Gln	Asp	Thr	His	Ser	Ala	Gly	Glu	Thr	Asp	Thr	Lys	Ile	Ile	Asn	Val	100	105	110	
Leu	Trp	Trp	Tyr	Tyr	Phe	Ser	Lys	Leu	Ile	Glu	Phe	Met	Asp	Thr	Phe	115	120	125	
Phe	Phe	Ile	Leu	Arg	Lys	Asn	Asn	His	Gln	Ile	Thr	Phe	Leu	His	Ile	130	135	140	
Tyr	His	His	Ala	Ser	Met	Leu	Asn	Ile	Trp	Trp	Phe	Val	Met	Asn	Trp	145	150	155	160
Val	Pro	Cys	Gly	His	Ser	Tyr	Phe	Gly	Ala	Ser	Leu	Asn	Ser	Phe	Ile	165	170	175	
His	Val	Leu	Met	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Ser	Ala	Val	Pro	Ala	Leu	180	185	190	
Arg	Pro	Tyr	Leu	Trp	Trp	Lys	Lys	Tyr	Ile	Thr	Gln	Val	Gln	Leu	Ile	195	200	205	
Gln	Phe	Phe	Leu	Thr	Met	Ser	Gln	Thr	Ile	Cys	Ala	Val	Ile	Trp	Pro	210	215	220	
Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Gly	Trp	Leu	Tyr	Phe	Gln	Ile	Phe	Tyr	Val	Ile	225	230	235	240
Thr	Leu	Ile	Ala	Leu	Phe	Ser	Asn	Phe	Tyr	Ile	Gln	Thr	Tyr	Lys	Lys	245	250	255	
His	Leu	Val	Ser	Gln	Lys	Lys	Glu	Tyr	His	Gln	Asn	Gly	Ser	Val	Ala	260	265	270	
Ser	Leu	Asn	Gly	His	Val	Asn	Gly	Val	Thr	Pro	Thr	Glu	Thr	Ile	Thr	275	280	285	

<400> 57

acggattaga agccgcccag cgggtgacag cctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt	60
cctcgtcctc accggtcgcg ttcctgaaac gcagatgtgc ctcgcgccgc actgctccga	120
acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac	180
ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga	240
ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt ttgatctat	300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcatt aaccacttta actaatactt tcaacatttt	360
cggtttgtat tacttcttat tcaaatgtaa taaaagtatc aacaaaaaat tgттаатата	420
cctctatact ttaacgtcaa ggagaaaaaa ccccggatcg gactactagc agctgtaata	480
cgactcacta tagggaatat taagcttaca ta atg gct tca aca tgg caa agc	533
	Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser
	1 5
ggt cag tcc atg cgc cag tgg att tta gag aat gga gat aaa agg aca	581
Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr	
10 15 20	
gac cca tgg cta ctg gtc tac tcc cct atg cca gtg gcc att ata ttc	629
Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro Met Pro Val Ala Ile Ile Phe	
25 30 35	
ctc ctc tat ctt ggt gtg gtc tgg gct ggg ccc aag ctg atg aaa cgc	677
Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg	
40 45 50 55	
agg gaa cca gtt gat ctc aag gct gta ctc att gtc tac aac ttc gcc	725
Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala	
60 65 70	

106

atg gtc tgc ctg tct gtc tac atg ttc cat gag ttc ttg gtc acg tcc	773
Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe His Glu Phe Leu Val Thr Ser	
75 80 85	
ttg ctg tct aac tac agt tac ctg tgt caa cct gtg gat tac agc act	821
Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr	
90 95 100	
agt cca ctg gcg atg agg atg gcc aaa gta tgc tgg tgg ttt ttc ttc	869
Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe	
105 110 115	
tcc aag gtc ata gaa ttg gct gac acg gtg ttc ttc atc ctg agg aag	917
Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys	
120 125 130 135	
aag aac agt cag ctg act ttc ctg cat gtc tat cac cat ggc acc atg	965
Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His Val Tyr His His Gly Thr Met	
140 145 150	
atc ttc aac tgg tgg gca ggg gtc aag tat ctg gct gga ggc caa tcg	1013
Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser	
155 160 165	
ttc ttc atc ggc ctg ctc aat acc ttt gtg cac atc gtg atg tac tct	1061
Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe Val His Ile Val Met Tyr Ser	
170 175 180	
tac tac gga ctg gct gcc ctg ggg cct cac acg cag aag tac tta tgg	1109
Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp	
185 190 195	
tgg aag cgc tat ctg acc tca ctg cag ctg ctc cag ttt gtc ctg ttg	1157
Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu	
200 205 210 215	
acc act cac act ggc tac aac ctc ttc act gag tgt gac ttc ccg gac	1205
Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp	
220 225 230	
tcc atg aac gct gtg gtg ttt gcc tac tgt gtc agt ctc att gct ctc	1253
Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu	
235 240 245	
ttc agc aac ttc tac tat cag agc tac ctc aac agg aag agc aag aag	1301
Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys	
250 255 260	
aca taaggatcca ctagtaacgg ccgccagtgt gctggaattc tgcagatatac	1354
Thr	
catcacactg gcggccgctc gagcatgcat ctagagggcc gcatcatgta attagttatg	1414
tcacgcttac attcacgccc tccccccaca tccgctctaa ccgaaaagga aggagttaga	1474

caacctgaag tctaggtccc tatttatattt tttatagtta tgtaggtatt aagaacgtta	1534
tttatatttc aaatttttct tttttttctg tacagacgcg tgtacgcatg taacattata	1594
ctgaaaacct tgcttgagaa ggttttggga cgctcgaagg ctttaatttg cggccctgca	1654
ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgctg attgggctct cttccgcttc	1714
ctcgctcact gactcgctgc gctcggctgt tcggctgcgg cgagcggat cagctcactc	1774
aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc	1834
aaaaggccag caaaagccca ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt tttccatag	1894
gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgtca agtcagaggt ggcgaaaccc	1954
gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc tcctcgtgc gctctcctgt	2014
tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgt	2074
ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag ttgggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg	2134
ctgtgtgcac gaacccccg ttcagccga ccgctgcgc ttatccgta actatcgtct	2194
tgagtccaac ccgtaagac acgacttatc gccactggca gcagccactg gtaacaggat	2254
tagcagagcg aggtatgtag gcggtgtac agagttcttg aagtgggtgg ctaactacgg	2314
ctacactaga aggacagtat ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa	2374
aagagttggg agctcttgat ccggcaaaaca aaccaccgct ggtagcgggt gtttttttgt	2434
ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc	2494
tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa gggattttgg tcatgagatt	2554
atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta	2614
aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat	2674
ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg tgtagataac	2734
tacgatacgg gagcgcttac catctggccc cagtgtgca atgataccgc gagaccacg	2794
ctcaccgggt ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc ggaaggggcg agcgcagaag	2854
tggtcctgca actttatccg cctccattca gtctattaat tggtgccggg aagctagagt	2914
aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cggtgttggt attgctacag gcacgtgggt	2974
gtcactctcg tcgtttggta tggcttcatt cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt	3034
tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc ttcggtcctc cgatcgttgt	3094
cagaagtaag ttggccgcag tggtatcact catgggtatg gcagcactgc ataattctct	3154

tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc tgtgactggg gagtactcaa ccaagtcatt 3214
ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg ctcttgcccc gegtcaatac gggataatag 3274
tgtatcacat agcagaactt taaaagtgt catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa 3334
actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg taaccactc gtgcacccaa 3394
ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca 3454
aaatgccgca aaaaaggga taagggcgac acggaaatgt tgaatactca tactcttctt 3514
ttttcaatgg gtaataactg atataattaa attgaagctc taatttgtga gtttagtata 3574
catgcattta cttataatac agttttttag ttttgtggc cgcattcttct caaatatgct 3634
tcccagcctg cttttctgta acgttcaccc tctaccttag catcccttcc ctttgcaaat 3694
agtctcttcc caacaataat aatgtcagat cctgtagaga ccaatcatc cagggttcta 3754
tactgttgac ccaatgcgtc tcccttgtca tctaaaccca caccgggtgt cataatcaac 3814
caatcgtaac cttcatctct tccacccatg tctctttgag caataaagcc gataacaaaa 3874
tctttgtgc tcttcgcaat gtcaacagta cccttagtat attctccagt agatagggag 3934
cccttgcatg acaattctgc taacatcaaa aggcctctag gttcctttgt tacttcttct 3994
gccgcctgct tcaaaccgct aacaatacct gggcccacca caccgtgtgc attcgtaatg 4054
tctgcccatt ctgctattct gtatacacc gcagagtact gcaatttgac tgtattacca 4114
atgtcagcaa attttctgtc ttcgaagagt aaaaaattgt acttggcgga taatgccttt 4174
agcggcttaa ctgtgccctc catggaaaaa tcagtcaaga tatccacatg tgtttttagt 4234
aaacaaattt tgggacctaa tgcttcaact aactccagta attccttggg ggtacgaaca 4294
tccaatgaag cacacaagtt tgtttgcttt tcgtgcatga tattaaatag cttggcagca 4354
acaggactag gatgagtagc agcacgttcc ttatatgtag ctttcgacat gatttatctt 4414
cgtttctctgc aggtttttgt tctgtgcagt tgggttaaga atactgggca atttcatggt 4474
tcttcaacac tacatatgcg tatatatacc aatctaagtc tgtgtctctt ccttcgttct 4534
tccttctgtt cggagattac cgaatcaaaa aaatttcaaa gaaaccgaaa tcaaaaaaaaa 4594
gaataaaaaa aaaatgatga attgaattga aaagctagct tatcgatgat aagctgtcaa 4654
agatgagaat taattccacg gactatagac tatactagat actccgtcta ctgtacgata 4714
cacttccgct caggctcctg tcctttaacg aggccttacc actcttttgt tactctattg 4774
atccagctca gcaaaggcag tgtgatctaa gattctatct tcgcgatgta gtaaaactag 4834

ctagaccgag aaagagacta gaaatgcaaa aggcaattct acaatggctg ccatcattat 4894
tatccgatgt gacgctgcag cttctcaatg atattcgaat acgctttgag gagatacagc 4954
ctaatatccg acaaactggt ttacagattt acgatcgtac ttgttaccca tcattgaatt 5014
ttgaacatcc gaacctggga gttttccctg aaacagatag tatatttgaa cctgtataat 5074
aatatatagt ctagcgcttt acggaagaca atgtatgtat ttcggttcct ggagaaacta 5134
ttgcatctat tgcataagta atcttgcacg tcgcatcccc ggttcatttt ctgcgtttcc 5194
atcttgcact tcaatagcat atctttgtta acgaagcatc tgtgcttcat tttgtagaac 5254
aaaaatgcaa cgcgagagcg ctaatttttc aaacaaagaa tctgagctgc atttttacag 5314
aacagaaatg caacgcgaaa gcgctatttt accaacgaag aatctgtgct tcatttttgt 5374
aaaacaaaaa tgcaacgcga cgagagcgct aattttttca acaaagaatc tgagctgcat 5434
ttttacagaa cagaaatgca acgcgagagc gctattttac caacaaagaa tctatacttc 5494
ttttttgttc tacaaaaatg catcccgaga gcgctatttt tctaacaaag catcttagat 5554
tacttttttt ctctttgtg cgctctataa tgcagtctct tgataacttt ttgcaactgta 5614
gggtccgttaa ggtagaaga aggctacttt ggtgtctatt ttctcttcca taaaaaagc 5674
ctgactccac ttcccgcggt tactgattac tagcgaagct gcgggtgcat tttttcaaga 5734
taaaggcatc cccgattata ttctataccg atgtggattg cgcatacttt gtgaacagaa 5794
agtgatagcg ttgatgattc ttcattggtc agaaaattat gaacggtttc ttctattttg 5854
tctctatata ctacgtatag gaaatgttta cattttcgta ttgttttcga ttcactctat 5914
gaatagttct tactacaatt tttttgtcta aagagtaata ctagagataa acataaaaaa 5974
tgtagaggtc gagtttagat gcaagttcaa ggagcgaaag gtggatgggt aggttatata 6034
gggatatagc acagagatat atagcaaaga gatacttttg agcaatgttt gtggaagcgg 6094
tattcgcaat gggaagctcc accccggttg ataatacagaa aagcccaaaa aacaggaaga 6154
ttgtataagc aaatatttta attgtaaagc ttaatatatt gttaaaattc gcgttaaatt 6214
tttgttaaat cagctcattt tttaacgaat agcccgaaat cggcaaaatc cttataaat 6274
caaaagaata gaccgagata gggttgagtg ttgttccagt ttccaacaag agtcactat 6334
taaagaacgt ggactccaac gtcaaagggc gaaaaagggc ctatcagggc gatggccac 6394
tacgtgaacc atcacctaa tcaagttttt tggggctcgag gtgccgtaaa gcagtaaattc 6454
ggaagggtaa acggatgccc ccatttagag cttgacgggg aaagccggcg aacgtggcga 6514

110

gaaaggaagg gaagaaagcg aaaggagcgg gggctagggc ggtgggaagt gtaggggtca 6574
 cgctgggcgt aaccaccaca cccgccgcgc ttaatggggc gctacagggc gcgtggggat 6634
 gatccactag t 6645

<210> 58

<211> 264

<212> PRT

<213> Oncorhynchus mykiss

<400> 58

Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu
 1 5 10 15

Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro
 20 25 30

Met Pro Val Ala Ile Ile Phe Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala
 35 40 45

Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val
 50 55 60

Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe
 65 70 75 80

His Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys
 85 90 95

Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys
 100 105 110

Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr
 115 120 125

Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His
 130 135 140

Val Tyr His His Gly Thr Met Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys
 145 150 155 160

Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe
 165 170 175

Val His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro
 180 185 190

His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln
 195 200 205

111

Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe
 210 215 220

Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr
 225 230 235 240

Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr
 245 250 255

Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys Thr
 260

<210> 59

<211> 1077

<212> DNA

<213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1077)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 59

atg tgc tca tca ccg ccg tca caa tcc aaa aca aca tcc ctc cta gca 48
 Met Cys Ser Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala
 1 5 10 15

cgg tac acc acc gcc gcc ctc ctc ctc ctc acc ctc aca aca tgg tgc 96
 Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys
 20 25 30

cac ttc gcc ttc cca gcc gcc acc gcc aca ccc ggc ctc acc gcc gaa 144
 His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu
 35 40 45

atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg 192
 Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
 50 55 60

agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag 240
 Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
 65 70 75 80

tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg 288
 Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
 85 90 95

112

gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala 100 105 110	336
gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly 115 120 125	384
gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys 130 135 140	432
gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly 145 150 155 160	480
aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile 165 170 175	528
gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile 180 185 190	576
tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser 195 200 205	624
tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr 210 215 220	672
ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr 225 230 235 240	720
ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp 245 250 255	768
gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln 260 265 270	816
gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys 275 280 285	864
cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys 290 295 300	912
aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp 305 310 315 320	960

113

ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct 1008
 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
 325 330 335

gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act 1056
 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
 340 345 350

cgt gtt act ggt gcc atg tag 1077
 Arg Val Thr Gly Ala Met
 355

<210> 60

<211> 358

<212> PRT

<213> Thalassiosira pseudonana

<400> 60

Met Cys Ser Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala
 1 5 10 15

Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys
 20 25 30

His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu
 35 40 45

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
 50 55 60

Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
 65 70 75 80

Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
 85 90 95

Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
 100 105 110

Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
 115 120 125

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
 130 135 140

Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
 145 150 155 160

Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
 165 170 175

114

Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
180 185 190

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
195 200 205

Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
210 215 220

Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr
225 230 235 240

Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp
245 250 255

Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln
260 265 270

Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
275 280 285

Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
290 295 300

Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
305 310 315 320

Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
325 330 335

Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
340 345 350

Arg Val Thr Gly Ala Met
355

<210> 61

<211> 933

<212> DNA

<213> Thalassiosira pseudonana

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(933)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 61

115

atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg	48
Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu	
1 5 10 15	
agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag	96
Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys	
20 25 30	
tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg	144
Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val	
35 40 45	
gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg	192
Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala	
50 55 60	
gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg	240
Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly	
65 70 75 80	
gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt	288
Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys	
85 90 95	
gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg	336
Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly	
100 105 110	
aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata	384
Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile	
115 120 125	
gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att	432
Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile	
130 135 140	
tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc	480
Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser	
145 150 155 160	
tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac	528
Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr	
165 170 175	
ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg	576
Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr	
180 185 190	
ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat	624
Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp	
195 200 205	
gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag	672
Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln	
210 215 220	

116

gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa 720
 Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
 225 230 235 240

cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag 768
 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
 245 250 255

aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat 816
 Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
 260 265 270

ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct 864
 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
 275 280 285

gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act 912
 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
 290 295 300

cgt gtt act ggt gcc atg tag 933
 Arg Val Thr Gly Ala Met
 305 310

<210> 62

<211> 310

<212> PRT

<213> *Thalassiosira pseudonana*

<400> 62

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
 1 5 10 15

Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
 20 25 30

Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
 35 40 45

Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
 50 55 60

Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
 65 70 75 80

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
 85 90 95

Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
 100 105 110

117

Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
115 120 125

Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
130 135 140

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
145 150 155 160

Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
165 170 175

Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr
180 185 190

Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp
195 200 205

Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln
210 215 220

Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
225 230 235 240

Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
245 250 255

Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
260 265 270

Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
275 280 285

Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
290 295 300

Arg Val Thr Gly Ala Met
305 310

<210> 63

<211> 933

<212> DNA

<213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(933)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 63

118

atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg	48
Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu	
1 5 10 15	
agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag	96
Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys	
20 25 30	
tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg	144
Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val	
35 40 45	
gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg	192
Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala	
50 55 60	
gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg	240
Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly	
65 70 75 80	
gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt	288
Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys	
85 90 95	
gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg	336
Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly	
100 105 110	
aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata	384
Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile	
115 120 125	
gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att	432
Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile	
130 135 140	
tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc	480
Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser	
145 150 155 160	
tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac	528
Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr	
165 170 175	
ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg	576
Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr	
180 185 190	
ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat	624
Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp	
195 200 205	
gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag	672
Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln	
210 215 220	

119

gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa 720
 Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
 225 230 235 240

cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag 768
 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
 245 250 255

aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat 816
 Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
 260 265 270

ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct 864
 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
 275 280 285

gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act 912
 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
 290 295 300

cgt gtt act ggt gcc atg tag 933
 Arg Val Thr Gly Ala Met
 305 310

<210> 64

<211> 310

<212> PRT

<213> *Thalassiosira pseudonana*

<400> 64

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
 1 5 10 15

Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
 20 25 30

Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
 35 40 45

Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
 50 55 60

Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
 65 70 75 80

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
 85 90 95

Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
 100 105 110

120

Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
115 120 125

Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
130 135 140

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
145 150 155 160

Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
165 170 175

Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr
180 185 190

Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp
195 200 205

Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln
210 215 220

Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
225 230 235 240

Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
245 250 255

Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
260 265 270

Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
275 280 285

Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
290 295 300

Arg Val Thr Gly Ala Met
305 310

<210> 65

<211> 825

<212> DNA

<213> Thraustochytrium aureum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(825)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 65

121

atg acg agc aac atg agc gcg tgg ggc gtc gcc gtc gac cag acg cag	48
Met Thr Ser Asn Met Ser Ala Trp Gly Val Ala Val Asp Gln Thr Gln	
1 5 10 15	
cag gtc gtc gac cag atc atg ggc ggc gcc gag ccg tac aag ctg aca	96
Gln Val Val Asp Gln Ile Met Gly Gly Ala Glu Pro Tyr Lys Leu Thr	
20 25 30	
gaa ggg cgc atg acg aac gtc gag acg atg ctg gcg atc gag tgc ggc	144
Glu Gly Arg Met Thr Asn Val Glu Thr Met Leu Ala Ile Glu Cys Gly	
35 40 45	
tac gcc gcc atg ctg ctg ttc ctg acc ccg atc atg aag cag gcc gag	192
Tyr Ala Ala Met Leu Leu Phe Leu Thr Pro Ile Met Lys Gln Ala Glu	
50 55 60	
aag ccc ttc gag ctc aag tcc ttc aag ctc gcc cac aac ctg ttc ctg	240
Lys Pro Phe Glu Leu Lys Ser Phe Lys Leu Ala His Asn Leu Phe Leu	
65 70 75 80	
ttc gtc ctg tcc gcc tac atg tgc ctc gag acc gtc cgc cag gcc tac	288
Phe Val Leu Ser Ala Tyr Met Cys Leu Glu Thr Val Arg Gln Ala Tyr	
85 90 95	
ctt gcg ggc tac tcg gtg ttc ggc aac gac atg gag aag ggc agc gag	336
Leu Ala Gly Tyr Ser Val Phe Gly Asn Asp Met Glu Lys Gly Ser Glu	
100 105 110	
ccg cac gcg cac ggc atg gcc caa atc gtg tgg atc ttt tac gtg tcc	384
Pro His Ala His Gly Met Ala Gln Ile Val Trp Ile Phe Tyr Val Ser	
115 120 125	
aag gcg tac gag ttc gtg gac acg ctg atc atg atc ctg tgc aaa aag	432
Lys Ala Tyr Glu Phe Val Asp Thr Leu Ile Met Ile Leu Cys Lys Lys	
130 135 140	
ttc aac cag gtc tcc gtc ctg cac gtg tac cac cac gcc acc atc ttt	480
Phe Asn Gln Val Ser Val Leu His Val Tyr His His Ala Thr Ile Phe	
145 150 155 160	
gct atc tgg ttt atg atc gcc aag tac gcc ccg ggc ggc gac gca tac	528
Ala Ile Trp Phe Met Ile Ala Lys Tyr Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr	
165 170 175	
ttt agc gtc atc ctg aac tcg ttc gtg cac acc gtc atg tac gcg tac	576
Phe Ser Val Ile Leu Asn Ser Phe Val His Thr Val Met Tyr Ala Tyr	
180 185 190	
tac ttc ttc tcg tcg cag ggc ttc ggc ttc gtc aag ccg atc aag ccg	624
Tyr Phe Phe Ser Ser Gln Gly Phe Gly Phe Val Lys Pro Ile Lys Pro	
195 200 205	
tac atc acc tcg ctg cag atg acg cag ttc atg gcg atg ctc gtg cag	672
Tyr Ile Thr Ser Leu Gln Met Thr Gln Phe Met Ala Met Leu Val Gln	
210 215 220	

122

tcg ctg tac gac tac ctt tac ccg tgc gac tac ccg cag ggg ctc gtc 720
 Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Tyr Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Gly Leu Val
 225 230 235 240

aag ctc ctc ggc gtg tac atg ctc acc ctg ctt gcg ctc ttc ggc aac 768
 Lys Leu Leu Gly Val Tyr Met Leu Thr Leu Leu Ala Leu Phe Gly Asn
 245 250 255

ttt ttc gtg cag agc tac ctc aag aag tcg aac aag ccc aag gcc aag 816
 Phe Phe Val Gln Ser Tyr Leu Lys Lys Ser Asn Lys Pro Lys Ala Lys
 260 265 270

tcg gcc taa 825
 Ser Ala

<210> 66

<211> 274

<212> PRT

<213> Thraustochytrium aureum

<400> 66

Met Thr Ser Asn Met Ser Ala Trp Gly Val Ala Val Asp Gln Thr Gln
 1 5 10 15

Gln Val Val Asp Gln Ile Met Gly Gly Ala Glu Pro Tyr Lys Leu Thr
 20 25 30

Glu Gly Arg Met Thr Asn Val Glu Thr Met Leu Ala Ile Glu Cys Gly
 35 40 45

Tyr Ala Ala Met Leu Leu Phe Leu Thr Pro Ile Met Lys Gln Ala Glu
 50 55 60

Lys Pro Phe Glu Leu Lys Ser Phe Lys Leu Ala His Asn Leu Phe Leu
 65 70 75 80

Phe Val Leu Ser Ala Tyr Met Cys Leu Glu Thr Val Arg Gln Ala Tyr
 85 90 95

Leu Ala Gly Tyr Ser Val Phe Gly Asn Asp Met Glu Lys Gly Ser Glu
 100 105 110

Pro His Ala His Gly Met Ala Gln Ile Val Trp Ile Phe Tyr Val Ser
 115 120 125

Lys Ala Tyr Glu Phe Val Asp Thr Leu Ile Met Ile Leu Cys Lys Lys
 130 135 140

Phe Asn Gln Val Ser Val Leu His Val Tyr His His Ala Thr Ile Phe
 145 150 155 160

123

Ala Ile Trp Phe Met Ile Ala Lys Tyr Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr
 165 170 175

Phe Ser Val Ile Leu Asn Ser Phe Val His Thr Val Met Tyr Ala Tyr
 180 185 190

Tyr Phe Phe Ser Ser Gln Gly Phe Gly Phe Val Lys Pro Ile Lys Pro
 195 200 205

Tyr Ile Thr Ser Leu Gln Met Thr Gln Phe Met Ala Met Leu Val Gln
 210 215 220

Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Tyr Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Gly Leu Val
 225 230 235 240

Lys Leu Leu Gly Val Tyr Met Leu Thr Leu Leu Ala Leu Phe Gly Asn
 245 250 255

Phe Phe Val Gln Ser Tyr Leu Lys Lys Ser Asn Lys Pro Lys Ala Lys
 260 265 270

Ser Ala

<210> 67

<211> 903

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(903)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 67

atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg ttc gcc gcg tac 48
 Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr
 1 5 10 15

gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tcg cac gcg aat ggc 96
 Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
 20 25 30

atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tcg ttg agg 144
 Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
 35 40 45

124

ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly 50 55 60	192
ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met 65 70 75 80	240
ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly 85 90 95	288
atg ttc gcg cga gag atc tcg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser 100 105 110	336
acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val 115 120 125	384
tgg ttg cac tac aac aac caa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe 130 135 140	432
atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr 145 150 155 160	480
cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met 165 170 175	528
gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser 180 185 190	576
ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly 195 200 205	624
att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln 210 215 220	672
ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His 225 230 235 240	720
tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met 245 250 255	768
ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser 260 265 270	816

125

cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg 864
 Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285

ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa 903
 Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

<210> 68

<211> 300

<212> PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

<400> 68

Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr
 1 5 10 15

Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
 20 25 30

Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
 35 40 45

Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
 50 55 60

Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
 65 70 75 80

Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
 85 90 95

Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser
 100 105 110

Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val
 115 120 125

Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe
 130 135 140

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr
 145 150 155 160

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met
 165 170 175

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser
 180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly
 195 200 205

126

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
225 230 235 240

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
290 295 300

<210> 69

<211> 879

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(879)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 69

atg agt ggc tta cgt gca ccc aac ttt tta cac aga ttc tgg aca aag 48
Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
1 5 10 15

tgg gac tac gcg att tcc aaa gtc gtc ttc acg tgt gcc gac agt ttt 96
Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
20 25 30

cag tgg gac atc ggg cca gtg agt tcg agt acg gcg cat tta ccc gcc 144
Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
35 40 45

att gaa tcc cct acc cca ctg gtg act agc ctc ttg ttc tac tta gtc 192
Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
50 55 60

aca gtt ttc ttg tgg tat ggt cgt tta acc agg agt tca gac aag aaa 240
Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
65 70 75 80

127

att aga gag cct acg tgg tta aga aga ttc ata ata tgt cat aat gcg Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala 85 90 95	288
ttc ttg ata gtc ctc agt ctt tac atg tgc ctt ggt tgt gtg gcc caa Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln 100 105 110	336
gcg tat cag aat gga tat act tta tgg ggt aat gaa ttc aag gcc acg Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr 115 120 125	384
gaa act cag ctt gct ctc tac att tac att ttt tac gta agt aaa ata Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile 130 135 140	432
tac gag ttt gta gat act tac att atg ctt ctc aag aat aac ttg cgg Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg 145 150 155 160	480
caa gta agt ttc cta cac att tat cac cac agc acg att tcc ttt att Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile 165 170 175	528
tgg tgg atc att gct cgg agg gct ccg ggt ggt gat gct tac ttc agc Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser 180 185 190	576
gcg gcc ttg aac tca tgg gta cac gtg tgc atg tac acc tat tat cta Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu 195 200 205	624
tta tca acc ctt att gga aaa gaa gat cct aag cgt tcc aac tac ctt Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu 210 215 220	672
tgg tgg ggt cgc cac cta acg caa atg cag atg ctt cag ttt ttc ttc Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe 225 230 235 240	720
aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tgc ttc tct acg tat ccc aag Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys 245 250 255	768
ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc ggc ttg Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu 260 265 270	816
ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln 275 280 285	864
aaa aaa cag cag tga Lys Lys Gln Gln 290	879

128

<210> 70

<211> 292

<212> PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

<400> 70

Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
 1 5 10 15

Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
 20 25 30

Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
 35 40 45

Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
 50 55 60

Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
 65 70 75 80

Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala
 85 90 95

Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln
 100 105 110

Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr
 115 120 125

Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile
 130 135 140

Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg
 145 150 155 160

Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile
 165 170 175

Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
 180 185 190

Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu
 195 200 205

Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu
 210 215 220

Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe
 225 230 235 240

129

Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys
 245 250 255

Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu
 260 265 270

Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln
 275 280 285

Lys Lys Gln Gln
 290

<210> 71

<211> 1362

<212> DNA

<213> *Primula farinosa*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1362)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 71

atg gct aac aaa tct cca cca aac ccc aaa aca ggt tac ata acc agc 48
 Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser
 1 5 10 15

tca gac ctg aaa tcc cac aac aag gca ggt gac cta tgg ata tca atc 96
 Ser Asp Leu Lys Ser His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile
 20 25 30

cac ggc caa gtc tac gac gtg tcc tct tgg gcc gcc ctt cat ccg ggg 144
 His Gly Gln Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Ala Leu His Pro Gly
 35 40 45

ggc act gcc cct ctc atg gcc ctt gca gga cac gac gtg acc gat gct 192
 Gly Thr Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala
 50 55 60

ttc ctc gcg tac cat ccc cct tcc act gcc cgt ctc ctc cct cct ctc 240
 Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu
 65 70 75 80

tct acc aac ctc ctt ctt caa aac cac tcc gtc tcc ccc acc tcc tca 288
 Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser
 85 90 95

130

gac tac cgc aaa ctc ctc gac aac ttc cat aaa cat ggc ctt ttc cgc Asp Tyr Arg Lys Leu Leu Asp Asn Phe His Lys His Gly Leu Phe Arg 100 105 110	336
gcc agg ggc cac act gct tac gcc acc ttc gtc ttc atg ata gcg atg Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Phe Met Ile Ala Met 115 120 125	384
ttt cta atg agc gtg act gga gtc ctt tgc agc gac agt gcg tgg gtc Phe Leu Met Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val 130 135 140	432
cat ttg gct agc ggc gga gca atg ggg ttc gcc tgg atc caa tgc gga His Leu Ala Ser Gly Gly Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly 145 150 155 160	480
tgg ata ggt cac gac tct ggg cat tac cgg att atg tct gac agg aaa Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys 165 170 175	528
tgg aac tgg ttc gcg caa atc cta agc aca aac tgc ctc cag ggg att Trp Asn Trp Phe Ala Gln Ile Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile 180 185 190	576
agt atc ggg tgg tgg aag tgg aac cat aat gcg cac cac atc gct tgc Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys 195 200 205	624
aat agc ctg gat tac gac ccc gac ctc cag tat atc cct ttg ctc gtc Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val 210 215 220	672
gtc tcc ccc aag ttc ttc aac tcc ctt act tct cgt ttc tac gac aag Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys 225 230 235 240	720
aag ctg aac ttc gac ggc gtg tcg agg ttt ctg gtt tgc tac cag cac Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His 245 250 255	768
tgg acg ttt tat ccg gtc atg tgt gtc gct agg ctg aac atg ctc gcg Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Leu Ala 260 265 270	816
cag tca ttt ata acg ctt ttc tcg agt agg gag gtg tgc cat agg gcg Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Cys His Arg Ala 275 280 285	864
caa gag gtt ttc gga ctt gcc gtg ttt tgg gtt tgg ttt ccg ctt tta Gln Glu Val Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu 290 295 300	912
ctt tct tgt tta cct aat tgg ggc gag agg att atg ttt ttg ctt gcg Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala 305 310 315 320	960

131

agc tat tcc gtt acg ggg ata caa cac gtg cag ttc agc ttg aac cat 1008
 Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His
 325 330 335

ttt tct tcg gac gtc tat gtg ggc ccg cca gta ggt aat gac tgg ttc 1056
 Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Gly Asn Asp Trp Phe
 340 345 350

aag aaa cag act gcc ggg aca ctt aac ata tcg tgc ccg gcg tgg atg 1104
 Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met
 355 360 365

gat tgg ttc cat ggc ggg tta cag ttt cag gtc gag cac cac ttg ttt 1152
 Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe
 370 375 380

ccg cgg atg cct agg ggt cag ttt agg aag att tct cct ttt gtg agg 1200
 Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg
 385 390 395 400

gat ttg tgt aag aaa cac aac ttg cct tac aat atc gcg tct ttt act 1248
 Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr
 405 410 415

aaa gcg aat gtg ttt acg ctt aag acg ctg aga aat acg gcc att gag 1296
 Lys Ala Asn Val Phe Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu
 420 425 430

gct cgg gac ctc tct aat ccg ctc cca aag aat atg gtg tgg gaa gct 1344
 Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Leu Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala
 435 440 445

ctt aaa act ctc ggg tga 1362
 Leu Lys Thr Leu Gly
 450

<210> 72

<211> 453

<212> PRT

<213> *Primula farinosa*

<400> 72

Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser
 1 5 10 15

Ser Asp Leu Lys Ser His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile
 20 25 30

His Gly Gln Val Tyr Asp Val Ser Trp Ala Ala Leu His Pro Gly
 35 40 45

132

Gly Thr Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala
 50 55 60

Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu
 65 70 75 80

Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser
 85 90 95

Asp Tyr Arg Lys Leu Leu Asp Asn Phe His Lys His Gly Leu Phe Arg
 100 105 110

Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Phe Met Ile Ala Met
 115 120 125

Phe Leu Met Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val
 130 135 140

His Leu Ala Ser Gly Gly Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly
 145 150 155 160

Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys
 165 170 175

Trp Asn Trp Phe Ala Gln Ile Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile
 180 185 190

Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys
 195 200 205

Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val
 210 215 220

Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys
 225 230 235 240

Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His
 245 250 255

Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Leu Ala
 260 265 270

Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Cys His Arg Ala
 275 280 285

Gln Glu Val Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu
 290 295 300

Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala
 305 310 315 320

Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His
 325 330 335

Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Gly Asn Asp Trp Phe
 340 345 350

133

Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met
355 360 365

Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe
370 375 380

Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg
385 390 395 400

Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr
405 410 415

Lys Ala Asn Val Phe Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu
420 425 430

Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Leu Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala
435 440 445

Leu Lys Thr Leu Gly
450

<210> 73

<211> 1362

<212> DNA

<213> Primula vialii

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1362)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 73

atg gct aac aaa tct cca cca aac ccc aaa aca ggt tac att acc agc 48
Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser
1 5 10 15

tca gac ctg aaa ggg cac aac aaa gca gga gac cta tgg ata tca atc 96
Ser Asp Leu Lys Gly His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile
20 25 30

cac ggg gag gta tac gac gtg tcc tcg tgg gcc ggc ctt cac ccg ggg 144
His Gly Glu Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Gly Leu His Pro Gly
35 40 45

ggc agt gcc ccc ctc atg gcc ctc gca gga cac gac gta acc gac gct 192
Gly Ser Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala
50 55 60

134

ttt cta gcg tat cat cct cct tct acc gcc cgc ctc ctc cct ccc ctc	240
Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu	
65 70 75 80	
tcc acc aac ctc ctc ctt caa aac cac tcc gtc tcc ccc acc tcc tct	288
Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser	
85 90 95	
gac tac cgc aaa ctc ctc cac aac ttc cat aaa att ggt atg ttc cgc	336
Asp Tyr Arg Lys Leu Leu His Asn Phe His Lys Ile Gly Met Phe Arg	
100 105 110	
gcc agg ggc cac act gct tac gcc acc ttc gtc atc atg ata gtg atg	384
Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Ile Met Ile Val Met	
115 120 125	
ttt cta acg agc gtg acc gga gtc ctt tgc agc gac agt gcg tgg gtc	432
Phe Leu Thr Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val	
130 135 140	
cat ctg gct agc ggc gca gca atg ggg ttc gcc tgg atc cag tgc gga	480
His Leu Ala Ser Gly Ala Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly	
145 150 155 160	
tgg ata ggt cac gac tct ggg cat tac cgg att atg tct gac agg aaa	528
Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys	
165 170 175	
tgg aac tgg ttc gcg cag gtc ctg agc aca aac tgc ctc cag ggg atc	576
Trp Asn Trp Phe Ala Gln Val Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile	
180 185 190	
agt atc ggg tgg tgg aag tgg aac cat aac gcc cac cac att gct tgc	624
Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys	
195 200 205	
aat agc ctg gac tac gac ccc gac ctc cag tat atc cct ttg ctc gtg	672
Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val	
210 215 220	
gtc tcc ccc aag ttc ttc aac tcc ctt act tct cgt ttc tac gac aag	720
Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys	
225 230 235 240	
aag ctg aat ttc gac ggc gtg tca agg ttt ctg gtt tgc tac cag cac	768
Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His	
245 250 255	
tgg acg ttt tat cca gtc atg tgt gtc gct agg cta aac atg atc gca	816
Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Ile Ala	
260 265 270	
cag tcg ttt ata acg ctt ttc tcg agc agg gag gtg ggt cat agg gcg	864
Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Gly His Arg Ala	
275 280 285	

135

caa gag att ttc gga ctt gct gtg ttt tgg gtt tgg ttt ccg ctc ctg 912
 Gln Glu Ile Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu
 290 295 300

ctc tct tgc tta cct aat tgg agc gag agg att atg ttt ctg cta gcg 960
 Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Ser Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala
 305 310 315 320

agc tat tcc gtt acg ggg ata cag cac gtg cag ttc agc ttg aac cat 1008
 Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His
 325 330 335

ttt tct tcg gac gtc tac gtg ggc ccg cca gta gct aac gac tgg ttc 1056
 Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Ala Asn Asp Trp Phe
 340 345 350

aag aaa cag act gct ggg aca ctt aac ata tcg tgc ccg gcg tgg atg 1104
 Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met
 355 360 365

gac tgg ttc cat ggc ggg ttg cag ttt cag gtc gag cac cac ttg ttt 1152
 Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe
 370 375 380

ccg cgg atg cct agg ggt cag ttt agg aag att tct cct ttt gtg agg 1200
 Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg
 385 390 395 400

gat ttg tgt aag aaa cac aac ttg cct tac aat atc gcg tct ttt act 1248
 Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr
 405 410 415

aaa gca aac gtg ttg acg ctt aag acg ctg aga aat acg gcc att gag 1296
 Lys Ala Asn Val Leu Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu
 420 425 430

gct cgg gac ctc tct aat ccg acc cca aag aat atg gtg tgg gaa gcc 1344
 Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Thr Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala
 435 440 445

gtc cac aca cac ggc tag 1362
 Val His Thr His Gly
 450

<210> 74
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Primula vialii
 <400> 74

Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser
 1 5 10 15

136

Ser Asp Leu Lys Gly His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile
 20 25 30

His Gly Glu Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Gly Leu His Pro Gly
 35 40 45

Gly Ser Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala
 50 55 60

Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu
 65 70 75 80

Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser
 85 90 95

Asp Tyr Arg Lys Leu Leu His Asn Phe His Lys Ile Gly Met Phe Arg
 100 105 110

Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Ile Met Ile Val Met
 115 120 125

Phe Leu Thr Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val
 130 135 140

His Leu Ala Ser Gly Ala Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly
 145 150 155 160

Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys
 165 170 175

Trp Asn Trp Phe Ala Gln Val Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile
 180 185 190

Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys
 195 200 205

Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val
 210 215 220

Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys
 225 230 235 240

Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His
 245 250 255

Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Ile Ala
 260 265 270

Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Gly His Arg Ala
 275 280 285

Gln Glu Ile Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu
 290 295 300

137

Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Ser Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala
305 310 315 320

Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His
325 330 335

Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Ala Asn Asp Trp Phe
340 345 350

Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met
355 360 365

Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe
370 375 380

Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg
385 390 395 400

Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr
405 410 415

Lys Ala Asn Val Leu Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu
420 425 430

Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Thr Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala
435 440 445

Val His Thr His Gly
450

<210> 75

<211> 903

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(903)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 75

atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg tcc gcc gcg tac
Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr
1 5 10 15

48

gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tcg cac gcg aat ggc
Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
20 25 30

96

138

atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tgc ttg agg Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg 35 40 45	144
ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga Leu Pro Ala Ile Ala Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly 50 55 60	192
ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met 65 70 75 80	240
ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly 85 90 95	288
atg ttc gcg cga gag atc tgc ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser 100 105 110	336
acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tgc ttt aag atc ctc ctc ggg gtg Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val 115 120 125	384
tgg ttg cac tac aac aac aaa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe 130 135 140	432
atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr 145 150 155 160	480
cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met 165 170 175	528
gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tgc Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser 180 185 190	576
ttc att cac atc gtg atg tac tgc tat tat ctc atg tgc gcg ctc ggc Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly 195 200 205	624
att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln 210 215 220	672
ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His 225 230 235 240	720
tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met 245 250 255	768

139

ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg 816
 Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
 260 265 270

cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg 864
 Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285

ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa 903
 Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

<210> 76

<211> 300

<212> PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

<400> 76

Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr
 1 5 10 15

Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
 20 25 30

Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
 35 40 45

Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
 50 55 60

Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
 65 70 75 80

Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
 85 90 95

Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser
 100 105 110

Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val
 115 120 125

Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe
 130 135 140

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr
 145 150 155 160

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met
 165 170 175

140

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser
 180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly
 195 200 205

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
 210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
 225 230 235 240

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
 245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
 260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

<210> 77

<211> 903

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(903)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 77

atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg ttc gcc gcg tac 48
 Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr
 1 5 10 15

gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tcg cac gcg aat ggc 96
 Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
 20 25 30

atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tcg ttg agg 144
 Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
 35 40 45

141

ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly 50 55 60	192
ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met 65 70 75 80	240
ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly 85 90 95	288
atg ttc gcg cga gag atc tcg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser 100 105 110	336
acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val 115 120 125	384
tgg ttg cac tac aac aac aaa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe 130 135 140	432
atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr 145 150 155 160	480
cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met 165 170 175	528
gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser 180 185 190	576
ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly 195 200 205	624
att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln 210 215 220	672
ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His 225 230 235 240	720
tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met 245 250 255	768
ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser 260 265 270	816

142

cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg 864
 Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285

ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa 903
 Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

<210> 78

<211> 300

<212> PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

<400> 78

Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr
 1 5 10 15

Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
 20 25 30

Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
 35 40 45

Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
 50 55 60

Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
 65 70 75 80

Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
 85 90 95

Met. Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser
 100 105 110

Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val
 115 120 125

Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe
 130 135 140

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr
 145 150 155 160

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met
 165 170 175

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser
 180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly
 195 200 205

143

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
 210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
 225 230 235 240

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
 245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
 260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

<210> 79

<211> 903

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(903)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 79

atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg tcc gcc gcg tac 48
 Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr
 1 5 10 15

gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tgg cac gcg aat ggc 96
 Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
 20 25 30

atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tgg ttg agg 144
 Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
 35 40 45

ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga 192
 Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
 50 55 60

ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg 240
 Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
 65 70 75 80

144

ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg	288
Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly	
85 90 95	
atg ttc gcg cga gag atc tcg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca	336
Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser	
100 105 110	
acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg	384
Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val	
115 120 125	
tgg ttg cac tac aac aac caa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc	432
Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe	
130 135 140	
atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat	480
Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr	
145 150 155 160	
cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg	528
His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met	
165 170 175	
gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg	576
Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser	
180 185 190	
ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc	624
Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly	
195 200 205	
att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa	672
Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln	
210 215 220	
ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac	720
Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His	
225 230 235 240	
tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg	768
Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met	
245 250 255	
ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg	816
Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser	
260 265 270	
cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg	864
Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala	
275 280 285	
ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa	903
Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp	
290 295 300	

145

<210> 80

<211> 300

<212> PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

<400> 80

Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr
1 5 10 15

Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
20 25 30

Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
35 40 45

Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
50 55 60

Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
65 70 75 80

Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
85 90 95

Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser
100 105 110

Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val
115 120 125

Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe
130 135 140

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr
145 150 155 160

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met
165 170 175

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser
180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly
195 200 205

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
225 230 235 240

146

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
 245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
 260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

<210> 81

<211> 879

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(879)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 81

atg agt ggc tta cgt gca ccc aac ttt tta cac aga ttc tgg aca aag 48
 Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
 1 5 10 15

tgg gac tac gcg att tcc aaa gtc gtc ttc acg tgt gcc gac agt ttt 96
 Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
 20 25 30

cag tgg gac atc ggg cca gtg agt tgc agt acg gcg cat tta ccc gcc 144
 Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
 35 40 45

att gaa tcc cct acc cca ctg gtg act agc ctc ttg ttc tac tta gtc 192
 Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
 50 55 60

aca gtt ttc ttg tgg tat ggt cgt tta acc agg agt tca gac aag aaa 240
 Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
 65 70 75 80

att aga gag cct acg tgg tta aga aga ttc ata ata tgt cat aat gcg 288
 Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala
 85 90 95

147

ttc ttg ata gtc ctc agt ctt tac atg tgc ctt ggt tgt gtg gcc caa 336
 Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln
 100 105 110

gcg tat cag aat gga tat act tta tgg ggt aat gaa ttc aag gcc acg 384
 Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr
 115 120 125

gaa act cag ctt gct ctc tac att tac att ttt tac gta agt aaa ata 432
 Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile
 130 135 140

tac gag ttt gta gat act tac att atg ctt ctc aag aat aac ttg cgg 480
 Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg
 145 150 155 160

caa gta aga ttc cta cac act tat cac cac agc acg att tcc ttt att 528
 Gln Val Arg Phe Leu His Thr Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile
 165 170 175

tgg tgg atc att gct cgg agg gct cgg ggt ggt gat gct tac ttc agc 576
 Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
 180 185 190

gcg gcc ttg aac tca tgg gta cac gtg tgc atg tac acc tat tat cta 624
 Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu
 195 200 205

tta tca acc ctt att gga aaa gaa gat cct aag cgt tcc aac tac ctt 672
 Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu
 210 215 220

tgg tgg ggt cgc cac cta acg caa atg cag atg ctt cag ttt ttc ttc 720
 Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe
 225 230 235 240

aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tgc ttc tct acg tat ccc aag 768
 Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys
 245 250 255

ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc ggc ttg 816
 Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu
 260 265 270

ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag 864
 Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln
 275 280 285

aaa aaa cag cag tga 879
 Lys Lys Gln Gln
 290

<210> 82

<211> 292

148

<212> PRT

<213> Ostreococcus tauri

<400> 82

Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
1 5 10 15

Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
20 25 30

Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
35 40 45

Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
50 55 60

Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
65 70 75 80

Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala
85 90 95

Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln
100 105 110

Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr
115 120 125

Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile
130 135 140

Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg
145 150 155 160

Gln Val Arg Phe Leu His Thr Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile
165 170 175

Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
180 185 190

Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu
195 200 205

Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu
210 215 220

Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe
225 230 235 240

Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys
245 250 255

Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu
260 265 270

149

Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln
 275 280 285

Lys Lys Gln Gln
 290

<210> 83

<211> 831

<212> DNA

<213> Thraustochytrium sp.

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(831)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 83

atg gac gtc gtc gag cag caa tgg cgc cgc ttc gtg gac gcc gtg gac 48
 Met Asp Val Val Glu Gln Gln Trp Arg Arg Phe Val Asp Ala Val Asp
 1 5 10 15

aac gga atc gtg gag ttc atg gag cat gag aag ccc aac aag ctg aac 96
 Asn Gly Ile Val Glu Phe Met Glu His Glu Lys Pro Asn Lys Leu Asn
 20 25 30

gag ggc aag ctc ttc acc tcg acc gag gag atg atg gcg ctt atc gtc 144
 Glu Gly Lys Leu Phe Thr Ser Thr Glu Glu Met Met Ala Leu Ile Val
 35 40 45

ggc tac ctg gcg ttc gtg gtc ctc ggg tcc gcc ttc atg aag gcc ttt 192
 Gly Tyr Leu Ala Phe Val Val Leu Gly Ser Ala Phe Met Lys Ala Phe
 50 55 60

gtc gat aag cct ttc gag ctc aag ttc ctc aag ctc gtg cac aac atc 240
 Val Asp Lys Pro Phe Glu Leu Lys Phe Leu Lys Leu Val His Asn Ile
 65 70 75 80

ttc ctc acc ggt ctg tcc atg tac atg gcc acc gag tgc gcg cgc cag 288
 Phe Leu Thr Gly Leu Ser Met Tyr Met Ala Thr Glu Cys Ala Arg Gln
 85 90 95

gca tac ctc ggc ggc tac aag ctc ttt ggc aac ccg atg gag aag ggc 336
 Ala Tyr Leu Gly Gly Tyr Lys Leu Phe Gly Asn Pro Met Glu Lys Gly
 100 105 110

150

acc gag tcg cac gcc ccg ggc atg gcc aac atc atc tac atc ttc tac 384
 Thr Glu Ser His Ala Pro Gly Met Ala Asn Ile Ile Tyr Ile Phe Tyr
 115 120 125

gtg agc aag ttc ctc gaa ttc ctc gac acc gtc ttc atg atc ctc ggc 432
 Val Ser Lys Phe Leu Glu Phe Leu Asp Thr Val Phe Met Ile Leu Gly
 130 135 140

aag aag tgg aag cag ctc agc ttt ctc cac gtc tac cac cac gcg agc 480
 Lys Lys Trp Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Ser
 145 150 155 160

atc agc ttc atc tgg ggc atc atc gcc cgc ttc gcg ccc ggt ggc gac 528
 Ile Ser Phe Ile Trp Gly Ile Ile Ala Arg Phe Ala Pro Gly Gly Asp
 165 170 175

gcc tac ttc tct acc atc ctc aac agc agc gtg cat gtc gtg ctc tac 576
 Ala Tyr Phe Ser Thr Ile Leu Asn Ser Ser Val His Val Val Leu Tyr
 180 185 190

ggc tac tac gcc tcg acc acc ctc ggc tac acc ttc atg cgc ccg ctg 624
 Gly Tyr Tyr Ala Ser Thr Thr Leu Gly Tyr Thr Phe Met Arg Pro Leu
 195 200 205

cgc ccg tac att acc acc att cag ctc acg cag ttc atg gcc atg gtc 672
 Arg Pro Tyr Ile Thr Thr Ile Gln Leu Thr Gln Phe Met Ala Met Val
 210 215 220

gtc cag tcc gtc tat gac tac tac aac ccc tgc gac tac ccg cag ccc 720
 Val Gln Ser Val Tyr Asp Tyr Tyr Asn Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Pro
 225 230 235 240

ctc gtc aag ctg ctc ttc tgg tac atg ctc acc atg ctc ggc ctc ttc 768
 Leu Val Lys Leu Leu Phe Trp Tyr Met Leu Thr Met Leu Gly Leu Phe
 245 250 255

ggc aac ttc ttc gtg cag cag tac ctc aag ccc aag gcg ccc aag aag 816
 Gly Asn Phe Phe Val Gln Gln Tyr Leu Lys Pro Lys Ala Pro Lys Lys
 260 265 270

cag aag acc atc taa 831
 Gln Lys Thr Ile
 275

<210> 84

<211> 276

<212> PRT

<213> Thraustochytrium sp.

<400> 84

Met Asp Val Val Glu Gln Gln Trp Arg Arg Phe Val Asp Ala Val Asp
 1 5 10 15

151

Asn Gly Ile Val Glu Phe Met Glu His Glu Lys Pro Asn Lys Leu Asn
20 25 30

Glu Gly Lys Leu Phe Thr Ser Thr Glu Glu Met Met Ala Leu Ile Val
35 40 45

Gly Tyr Leu Ala Phe Val Val Leu Gly Ser Ala Phe Met Lys Ala Phe
50 55 60

Val Asp Lys Pro Phe Glu Leu Lys Phe Leu Lys Leu Val His Asn Ile
65 70 75 80

Phe Leu Thr Gly Leu Ser Met Tyr Met Ala Thr Glu Cys Ala Arg Gln
85 90 95

Ala Tyr Leu Gly Gly Tyr Lys Leu Phe Gly Asn Pro Met Glu Lys Gly
100 105 110

Thr Glu Ser His Ala Pro Gly Met Ala Asn Ile Ile Tyr Ile Phe Tyr
115 120 125

Val Ser Lys Phe Leu Glu Phe Leu Asp Thr Val Phe Met Ile Leu Gly
130 135 140

Lys Lys Trp Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Ser
145 150 155 160

Ile Ser Phe Ile Trp Gly Ile Ile Ala Arg Phe Ala Pro Gly Gly Asp
165 170 175

Ala Tyr Phe Ser Thr Ile Leu Asn Ser Ser Val His Val Val Leu Tyr
180 185 190

Gly Tyr Tyr Ala Ser Thr Thr Leu Gly Tyr Thr Phe Met Arg Pro Leu
195 200 205

Arg Pro Tyr Ile Thr Thr Ile Gln Leu Thr Gln Phe Met Ala Met Val
210 215 220

Val Gln Ser Val Tyr Asp Tyr Tyr Asn Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Pro
225 230 235 240

Leu Val Lys Leu Leu Phe Trp Tyr Met Leu Thr Met Leu Gly Leu Phe
245 250 255

Gly Asn Phe Phe Val Gln Gln Tyr Leu Lys Pro Lys Ala Pro Lys Lys
260 265 270

Gln Lys Thr Ile
275

<210> 85

<211> 1077

152

<212> DNA

<213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1077)

<223> Delta-5-Elongase

<400> 85

atg tgc tca cca ccg ccg tca caa tcc aaa aca aca tcc ctc cta gca	48
Met Cys Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala	
1 5 10 15	
cgg tac acc acc gcc gcc ctc ctc ctc ctc acc ctc aca acg tgg tgc	96
Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys	
20 25 30	
cac ttc gcc ttc cca gcc gcc acc gcc aca ccc ggc ctc acc gcc gaa	144
His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu	
35 40 45	
atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg	192
Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu	
50 55 60	
agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag	240
Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys	
65 70 75 80	
tat gat atg aag tca ctc ctg acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg	288
Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val	
85 90 95	
gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg	336
Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala	
100 105 110	
gtg atg aat aga gac cat cct ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg	384
Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly	
115 120 125	
gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt	432
Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys	
130 135 140	
gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg	480
Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly	
145 150 155 160	

153

aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile 165 170 175	528
gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggc gga gac att Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile 180 185 190	576
tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser 195 200 205	624
tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr 210 215 220	672
ttg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr 225 230 235 240	720
ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp 245 250 255	768
gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln 260 265 270	816
gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys 275 280 285	864
cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys 290 295 300	912
aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp 305 310 315 320	960
ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala 325 330 335	1008
gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr 340 345 350	1056
cgt gtt act ggt gcc atg tag Arg Val Thr Gly Ala Met 355	1077
<210> 86	
<211> 358	

154

<212> PRT

<213> Thalassiosira pseudonana

<400> 86

Met Cys Ser Pro Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala
1 5 10 15

Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys
20 25 30

His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu
35 40 45

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
50 55 60

Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
65 70 75 80

Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
85 90 95

Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
100 105 110

Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
115 120 125

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
130 135 140

Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
145 150 155 160

Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
165 170 175

Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
180 185 190

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
195 200 205

Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
210 215 220

Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr
225 230 235 240

Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp
245 250 255

Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln
260 265 270

155

Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
275 280 285

Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
290 295 300

Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
305 310 315 320

Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
325 330 335

Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
340 345 350

Arg Val Thr Gly Ala Met
355

<210> 87

<211> 1086

<212> DNA

<213> *Phytophthora infestans*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1086)

<223> Omega-3-Desaturase

<400> 87

atg gcg acg aag gag gcg tat gtg ttc ccc act ctg acg gag atc aag 48
Met Ala Thr Lys Glu Ala Tyr Val Phe Pro Thr Leu Thr Glu Ile Lys
1 5 10 15

cgg tcg cta cct aaa gac tgt ttc gag gct tcg gtg cct ctg tcg ctc 96
Arg Ser Leu Pro Lys Asp Cys Phe Glu Ala Ser Val Pro Leu Ser Leu
20 25 30

tac tac acc gtg cgt tgt ctg gtg atc gcg gtg gct cta acc ttc ggt 144
Tyr Tyr Thr Val Arg Cys Leu Val Ile Ala Val Ala Leu Thr Phe Gly
35 40 45

ctc aac tac gct cgc gct ctg ccc gag gtc gag agc ttc tgg gct ctg 192
Leu Asn Tyr Ala Arg Ala Leu Pro Glu Val Glu Ser Phe Trp Ala Leu
50 55 60

gac gcc gca ctc tgc acg ggc tac atc ttg ctg cag ggc atc gtg ttc 240
Asp Ala Ala Leu Cys Thr Gly Tyr Ile Leu Leu Gln Gly Ile Val Phe
65 70 75 80

156

tgg ggc ttc ttc acg gtg ggc cac gat gcc ggc cac ggc gcc ttc tcg	288
Trp Gly Phe Phe Thr Val Gly His Asp Ala Gly His Gly Ala Phe Ser	
85 90 95	
cgc tac cac ctg ctt aac ttc gtg gtg ggc act ttc atg cac tcg ctc	336
Arg Tyr His Leu Leu Asn Phe Val Val Gly Thr Phe Met His Ser Leu	
100 105 110	
atc ctc acg ccc ttc gag tcg tgg aag ctc acg cac cgt cac cac cac	384
Ile Leu Thr Pro Phe Glu Ser Trp Lys Leu Thr His Arg His His His	
115 120 125	
aag aac acg ggc aac att gac cgt gac gag gtc ttc tac ccg caa cgc	432
Lys Asn Thr Gly Asn Ile Asp Arg Asp Glu Val Phe Tyr Pro Gln Arg	
130 135 140	
aag gcc gac gac cac ccg ctg tct cgc aac ctg att ctg gcg ctc ggg	480
Lys Ala Asp Asp His Pro Leu Ser Arg Asn Leu Ile Leu Ala Leu Gly	
145 150 155 160	
gca gcg tgg ctc gcc tat ttg gtc gag ggc ttc cct cct cgt aag gtc	528
Ala Ala Trp Leu Ala Tyr Leu Val Glu Gly Phe Pro Pro Arg Lys Val	
165 170 175	
aac cac ttc aac ccg ttc gag cct ctg ttc gtg cgt cag gtg tca gct	576
Asn His Phe Asn Pro Phe Glu Pro Leu Phe Val Arg Gln Val Ser Ala	
180 185 190	
gtg gta atc tct ctt ctc gcc cac ttc ttc gtg gcc gga ctc tcc atc	624
Val Val Ile Ser Leu Leu Ala His Phe Phe Val Ala Gly Leu Ser Ile	
195 200 205	
tat ctg agc ctc cag ctg ggc ctt aag acg atg gca atc tac tac tat	672
Tyr Leu Ser Leu Gln Leu Gly Leu Lys Thr Met Ala Ile Tyr Tyr Tyr	
210 215 220	
gga cct gtt ttt gtg ttc ggc agc atg ctg gtc att acc acc ttc cta	720
Gly Pro Val Phe Val Phe Gly Ser Met Leu Val Ile Thr Thr Phe Leu	
225 230 235 240	
cac cac aat gat gag gag acc cca tgg tac gcc gac tcg gag tgg acg	768
His His Asn Asp Glu Glu Thr Pro Trp Tyr Ala Asp Ser Glu Trp Thr	
245 250 255	
tac gtc aag ggc aac ctc tcg tcc gtg gac cga tcg tac ggc gcg ctc	816
Tyr Val Lys Gly Asn Leu Ser Ser Val Asp Arg Ser Tyr Gly Ala Leu	
260 265 270	
att gac aac ctg agc cac aac atc ggc acg cac cag atc cac cac ctt	864
Ile Asp Asn Leu Ser His Asn Ile Gly Thr His Gln Ile His His Leu	
275 280 285	
ttc cct atc att ccg cac tac aaa ctc aag aaa gcc act gcg gcc ttc	912
Phe Pro Ile Ile Pro His Tyr Lys Leu Lys Lys Ala Thr Ala Ala Phe	
290 295 300	

157

cac cag gct ttc cct gag ctc gtg cgc aag agc gac gag cca att atc 960
 His Gln Ala Phe Pro Glu Leu Val Arg Lys Ser Asp Glu Pro Ile Ile
 305 310 315 320

aag gct ttc ttc cgg gtt gga cgt ctc tac gca aac tac ggc gtt gtg 1008
 Lys Ala Phe Phe Arg Val Gly Arg Leu Tyr Ala Asn Tyr Gly Val Val
 325 330 335

gac cag gag gcg aag ctc ttc acg cta aag gaa gcc aag gcg gcg acc 1056
 Asp Gln Glu Ala Lys Leu Phe Thr Leu Lys Glu Ala Lys Ala Ala Thr
 340 345 350

gag gcg gcg gcc aag acc aag tcc acg taa 1086
 Glu Ala Ala Ala Lys Thr Lys Ser Thr
 355 360

<210> 88

<211> 361

<212> PRT

<213> Phytophthora infestans

<400> 88

Met Ala Thr Lys Glu Ala Tyr Val Phe Pro Thr Leu Thr Glu Ile Lys
 1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Lys Asp Cys Phe Glu Ala Ser Val Pro Leu Ser Leu
 20 25 30

Tyr Tyr Thr Val Arg Cys Leu Val Ile Ala Val Ala Leu Thr Phe Gly
 35 40 45

Leu Asn Tyr Ala Arg Ala Leu Pro Glu Val Glu Ser Phe Trp Ala Leu
 50 55 60

Asp Ala Ala Leu Cys Thr Gly Tyr Ile Leu Leu Gln Gly Ile Val Phe
 65 70 75 80

Trp Gly Phe Phe Thr Val Gly His Asp Ala Gly His Gly Ala Phe Ser
 85 90 95

Arg Tyr His Leu Leu Asn Phe Val Val Gly Thr Phe Met His Ser Leu
 100 105 110

Ile Leu Thr Pro Phe Glu Ser Trp Lys Leu Thr His Arg His His His
 115 120 125

Lys Asn Thr Gly Asn Ile Asp Arg Asp Glu Val Phe Tyr Pro Gln Arg
 130 135 140

Lys Ala Asp Asp His Pro Leu Ser Arg Asn Leu Ile Leu Ala Leu Gly
 145 150 155 160

158

Ala Ala Trp Leu Ala Tyr Leu Val Glu Gly Phe Pro Pro Arg Lys Val
165 170 175

Asn His Phe Asn Pro Phe Glu Pro Leu Phe Val Arg Gln Val Ser Ala
180 185 190

Val Val Ile Ser Leu Leu Ala His Phe Phe Val Ala Gly Leu Ser Ile
195 200 205

Tyr Leu Ser Leu Gln Leu Gly Leu Lys Thr Met Ala Ile Tyr Tyr Tyr
210 215 220

Gly Pro Val Phe Val Phe Gly Ser Met Leu Val Ile Thr Thr Phe Leu
225 230 235 240

His His Asn Asp Glu Glu Thr Pro Trp Tyr Ala Asp Ser Glu Trp Thr
245 250 255

Tyr Val Lys Gly Asn Leu Ser Ser Val Asp Arg Ser Tyr Gly Ala Leu
260 265 270

Ile Asp Asn Leu Ser His Asn Ile Gly Thr His Gln Ile His His Leu
275 280 285

Phe Pro Ile Ile Pro His Tyr Lys Leu Lys Lys Ala Thr Ala Ala Phe
290 295 300

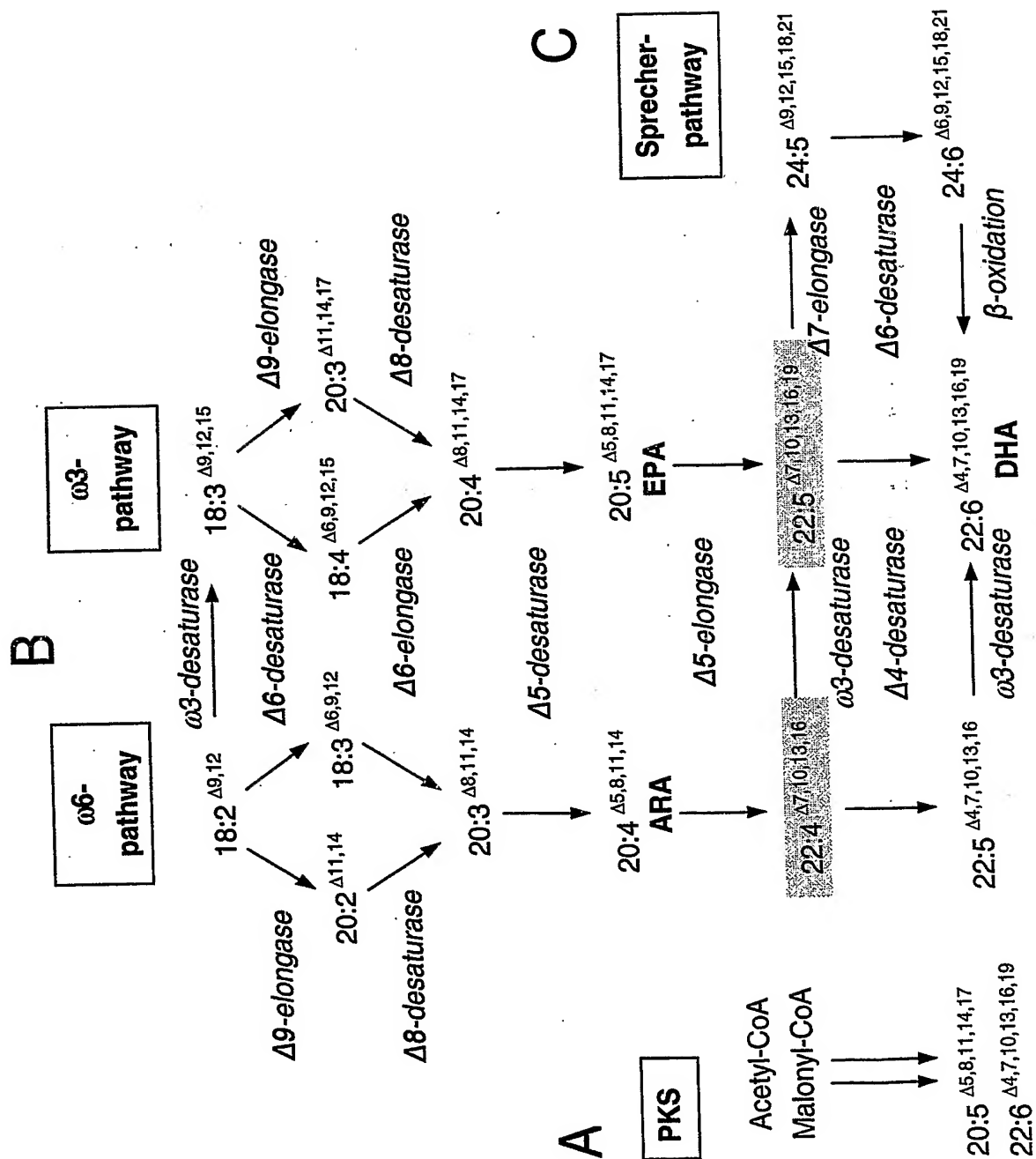
His Gln Ala Phe Pro Glu Leu Val Arg Lys Ser Asp Glu Pro Ile Ile
305 310 315 320

Lys Ala Phe Phe Arg Val Gly Arg Leu Tyr Ala Asn Tyr Gly Val Val
325 330 335

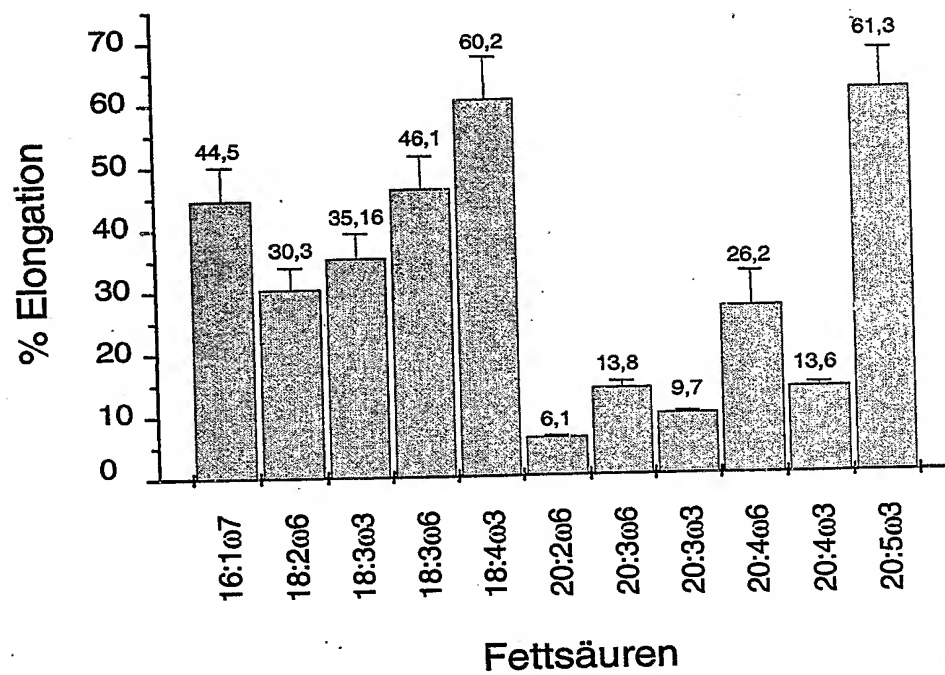
Asp Gln Glu Ala Lys Leu Phe Thr Leu Lys Glu Ala Lys Ala Ala Thr
340 345 350

Glu Ala Ala Ala Lys Thr Lys Ser Thr
355 360

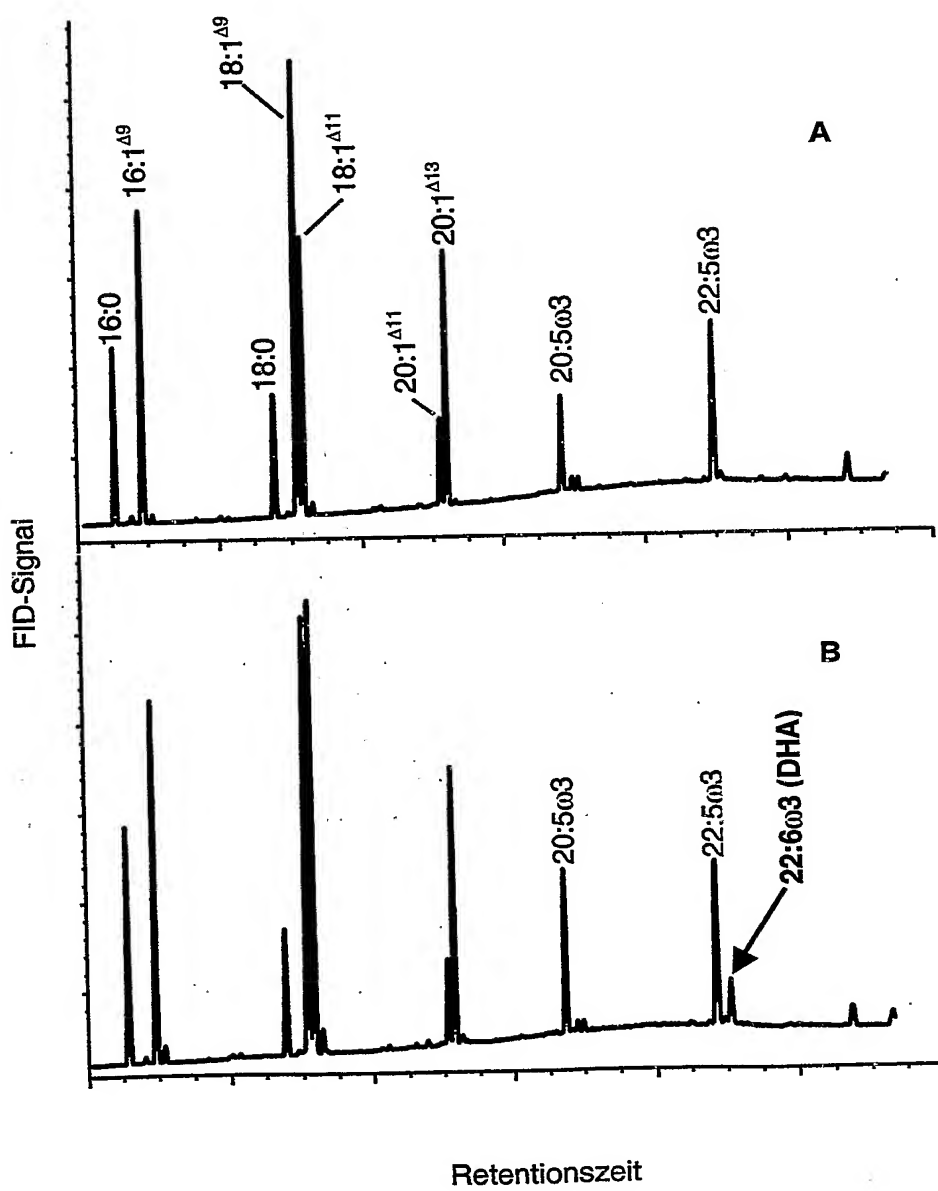
Figur 1: Verschiedene Synthese-Wege zur Biosynthese von DHA (Docosahexaensäure)



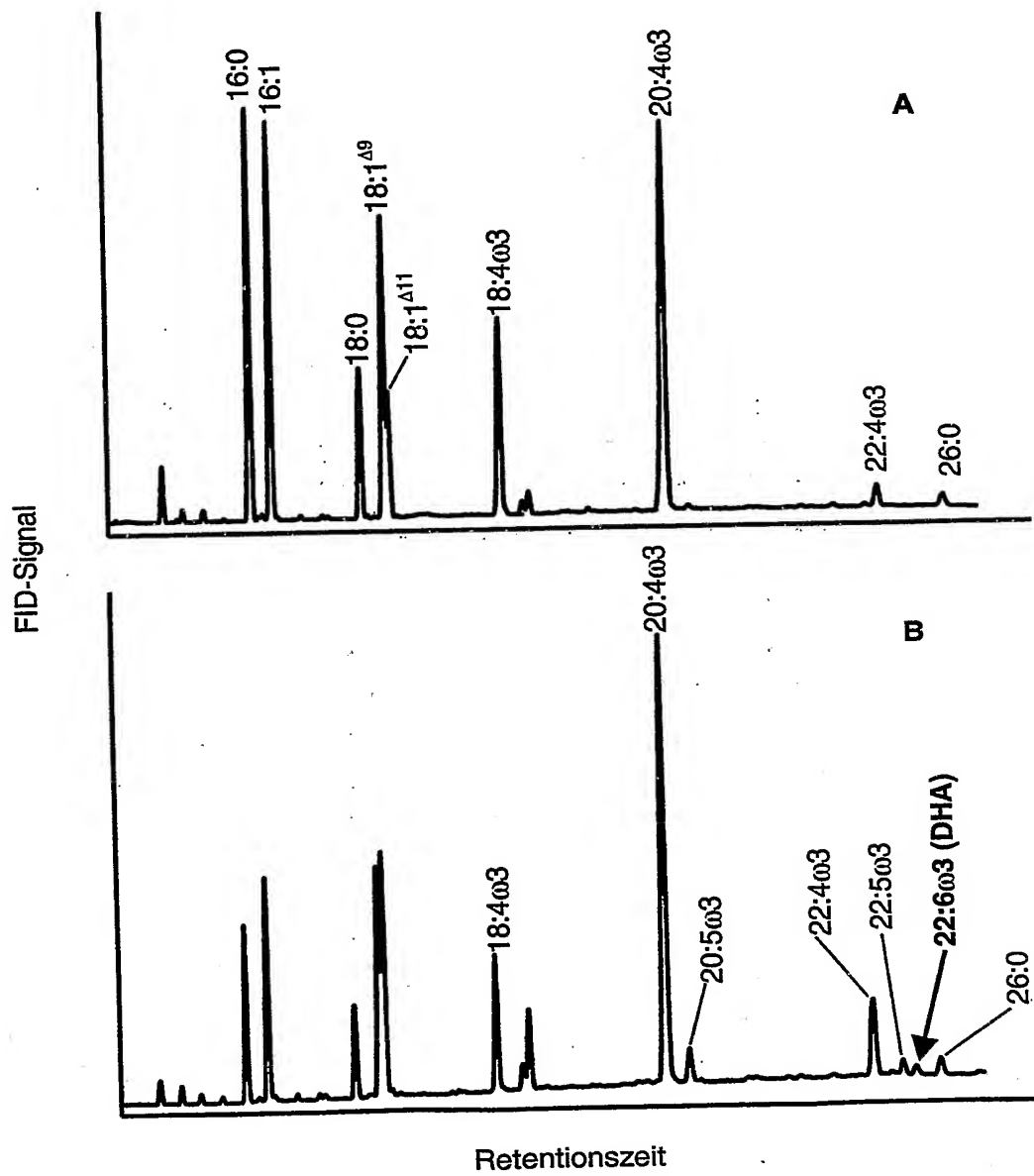
Figur 2: Substratspezifität der Δ -5-Elongase (SEQ ID NO: 53) gegenüber verschiedenen Fettsäuren



Figur 3: Rekonstitution der DHA-Biosynthese in Hefe ausgehend von 20:5 ω 3.



Figur 4: Rekonstitution der DHA-Biosynthese in Hefe ausgehend von 18:4 ω 3.

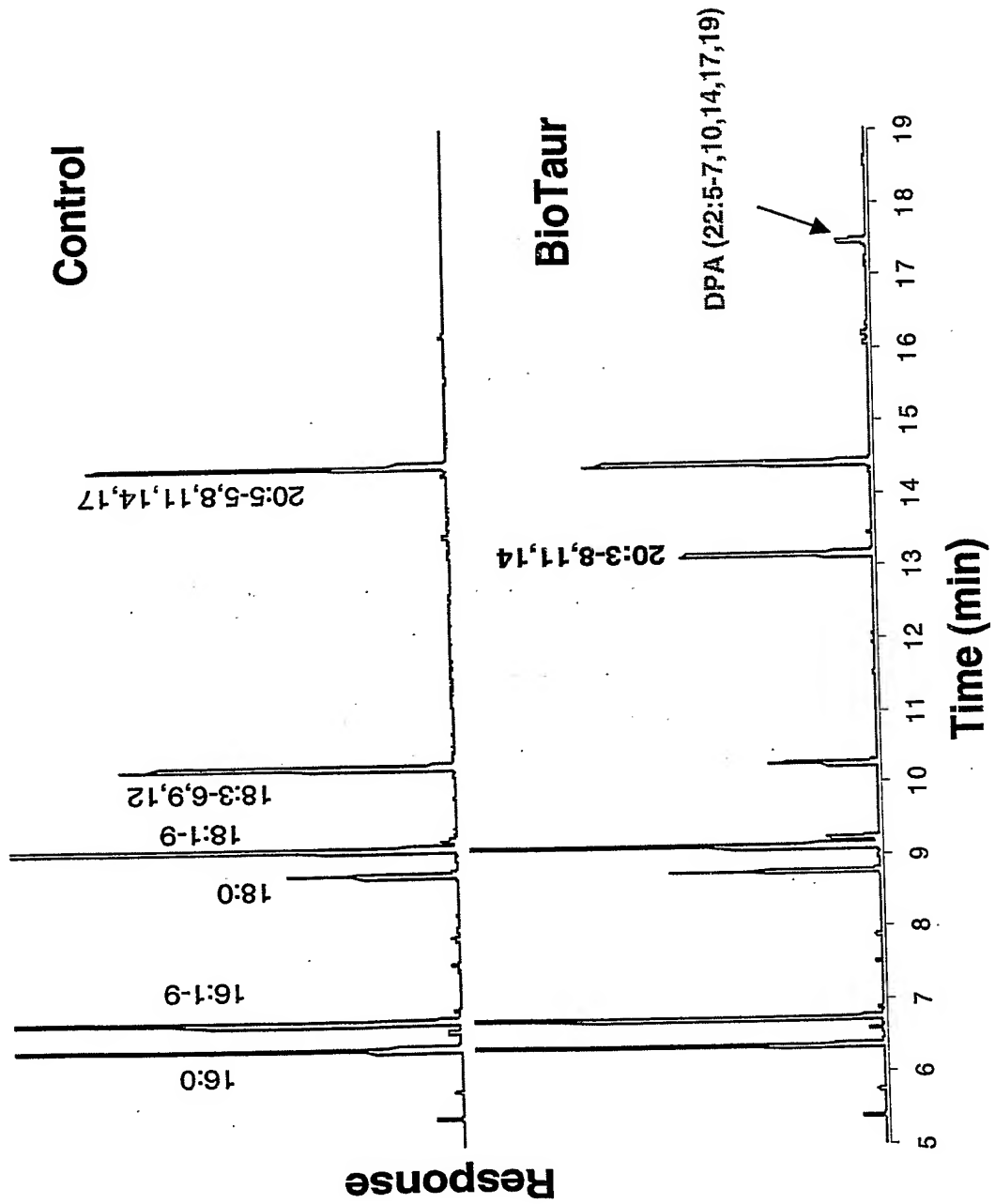


5/19

Figur 5: Fettsäure-Zusammensetzung (in Mol %) transgener Hefen, die mit den Vektoren pYes3-OmELO3/pYes2-EgD4 oder pYes3-OmELO3/pYes2-EgD4+pESCLEu-PtD5 transformiert worden waren. Die Hefezellen wurden in Minimalmedium ohne Tryptophan und Uracil / und Leucin in Gegenwart von 250 μ M 20:5 ^{Δ 5,8,11,14,17} bzw. 18:4 ^{Δ 6,9,12,15} kultiviert. Die Fettsäuremethylester wurden durch saure Methanolyse aus Zellsedimenten gewonnen und über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert (n=4) \pm Standardabweichung wieder.

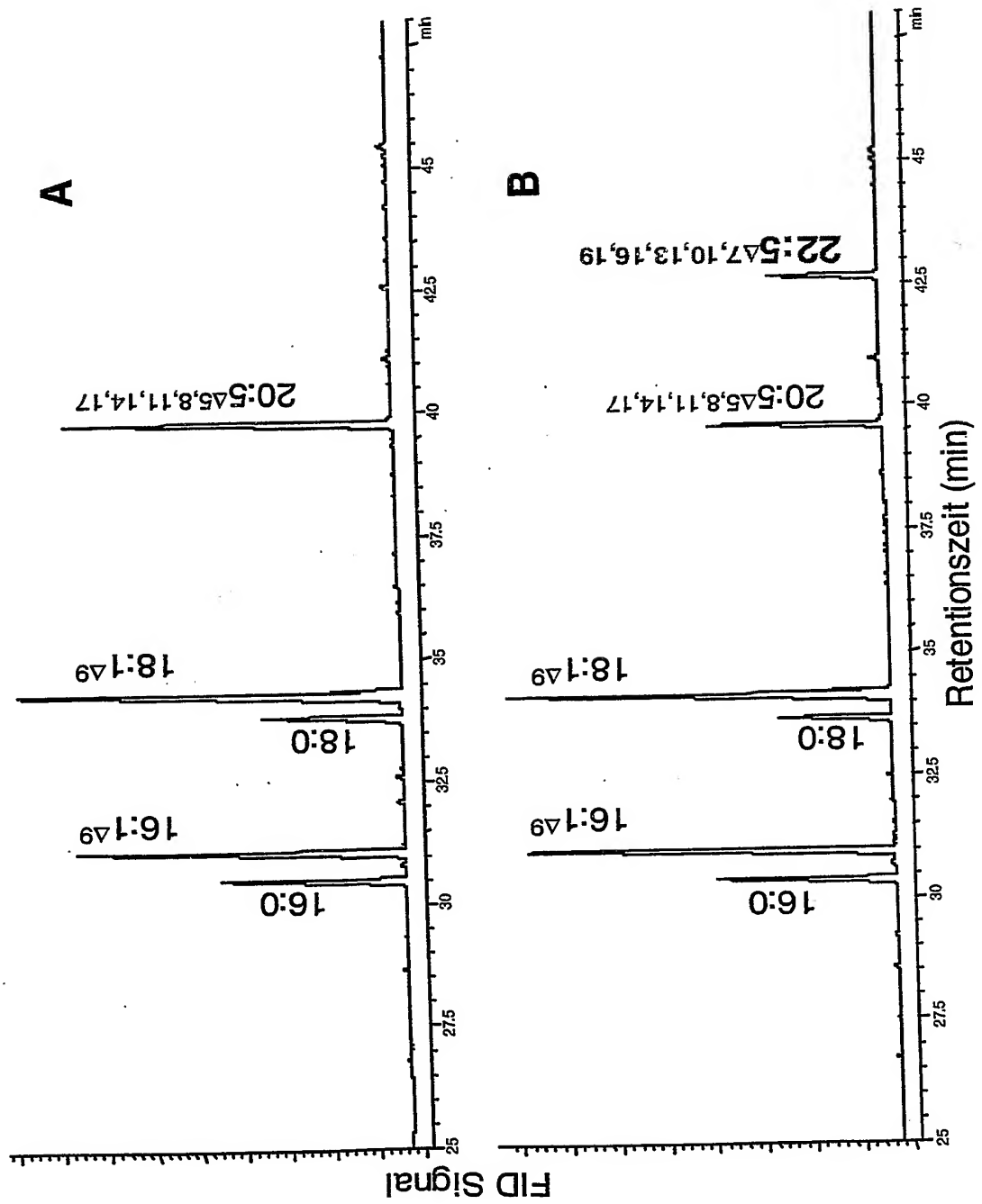
Fettsäuren	pYes3-OmELO/pYes2-EgD4	pYes3-OmELO/pYes2-EgD4 EgD4 + pESCLEu-PtD5
	Fütterung mit 20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	Fütterung mit 18:4 ^{Δ6,9,12,15}
16:0	9,35 \pm 1,61	7,35 \pm 1,37
16:1 ^{Δ9}	14,70 \pm 2,72	10,02 \pm 1,81
18:0	5,11 \pm 1,09	4,27 \pm 1,21
18:1 ^{Δ9}	19,49 \pm 3,01	10,81 \pm 1,95
18:1 ^{Δ11}	18,93 \pm 2,71	11,61 \pm 1,48
18:4 ^{Δ6,9,12,15}	-	7,79 \pm 1,29
20:1 ^{Δ11}	3,24 \pm 0,41	1,56 \pm 0,23
20:1 ^{Δ13}	11,13 \pm 2,07	4,40 \pm 0,78
20:4 ^{Δ8,11,14,17}	-	30,05 \pm 3,16
20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	6,91 \pm 1,10	3,72 \pm 0,59
22:4 ^{Δ10,13,16,17}	-	5,71 \pm 1,30
22:5 ^{Δ7,10,13,16,19}	8,77 \pm 1,32	1,10 \pm 0,27
22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	2,73 \pm 0,39	0,58 \pm 0,10

Figur 6: Fütterungsexperiment zur Bestimmung der Funktionalität und Substratspezifität mit Hefestämmen

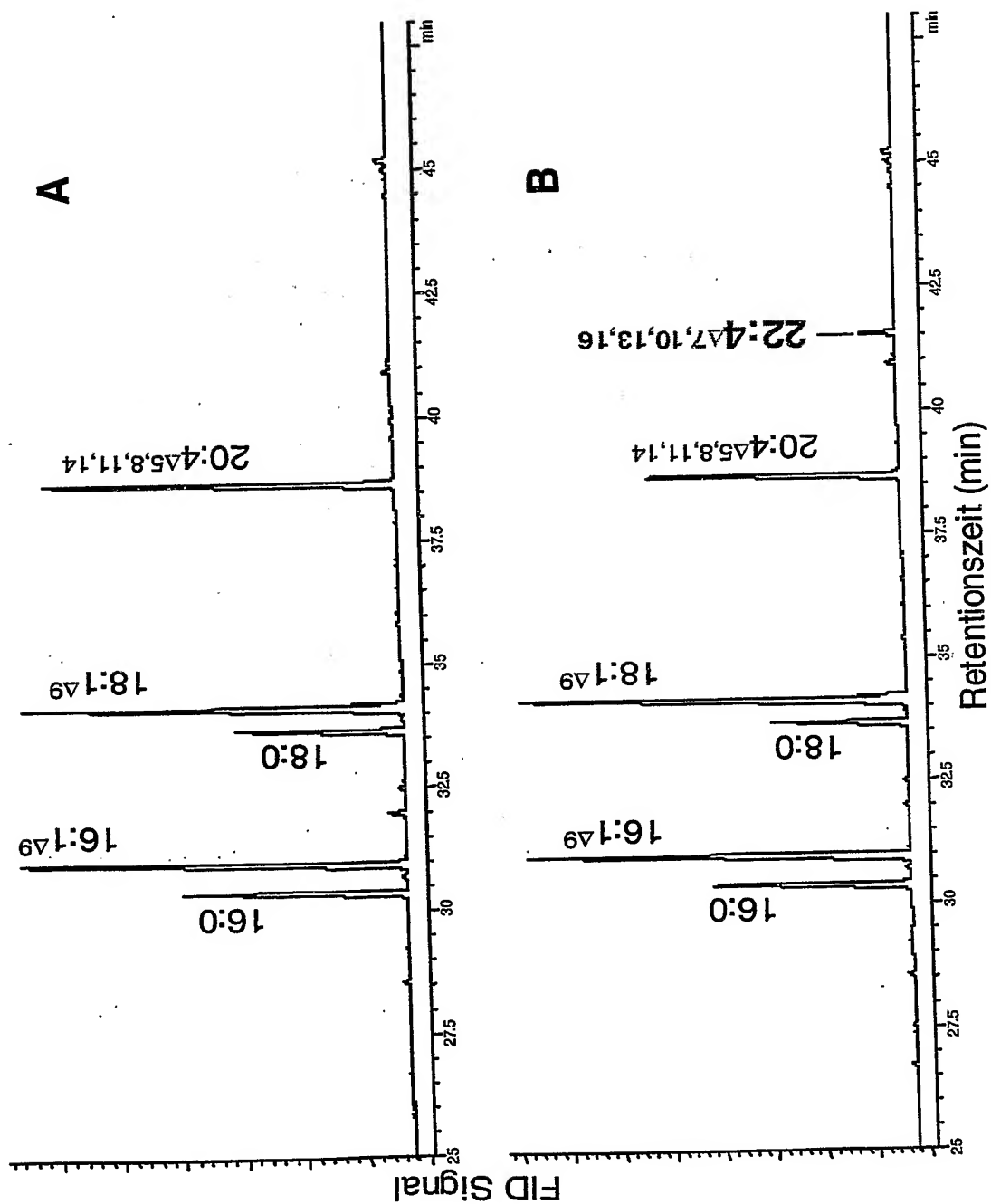


7/19

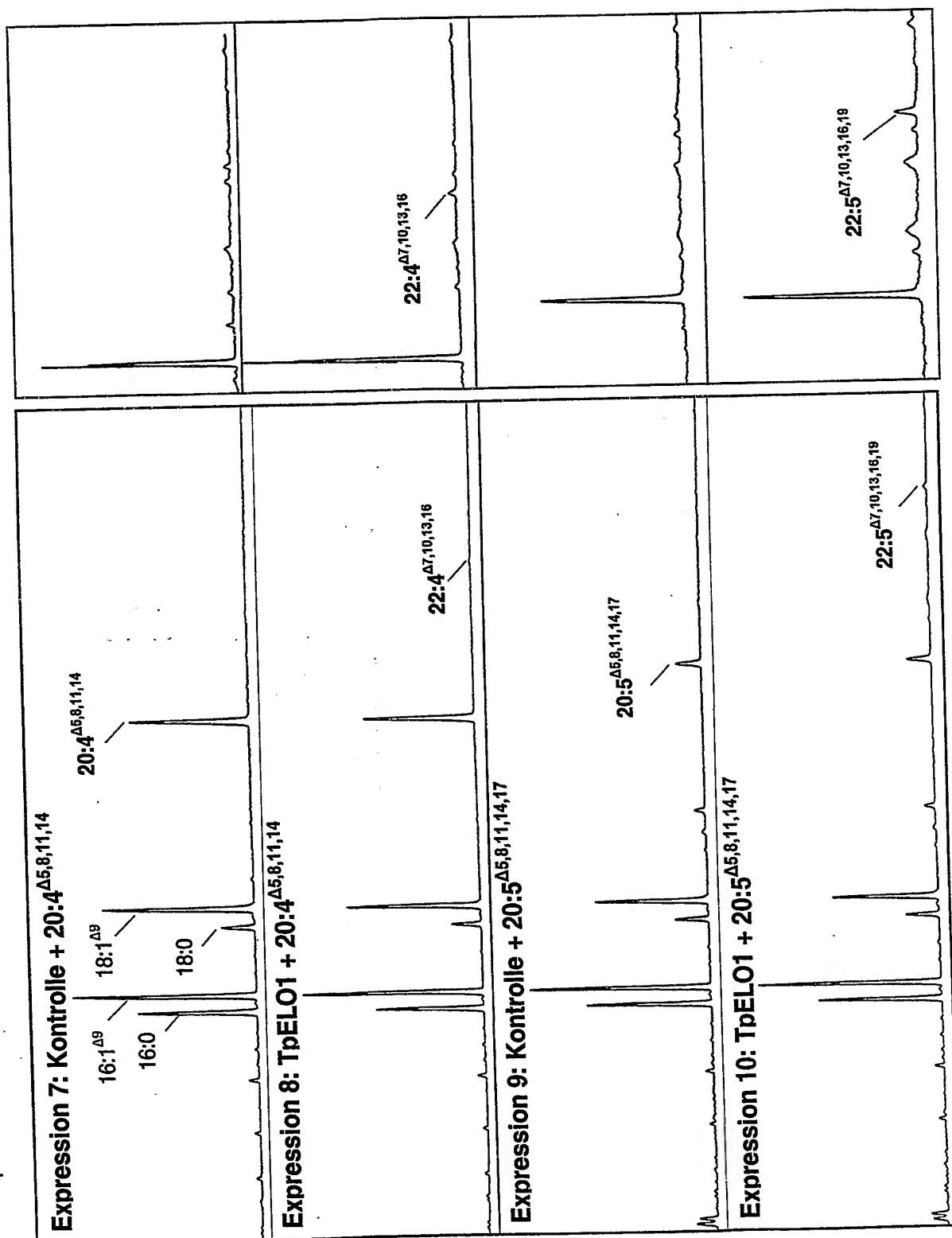
Figur 7: Elongation von Eicosapentaensäure durch OtElo1



Figur 8: Elongation von Arachidonsäure durch Otlol1

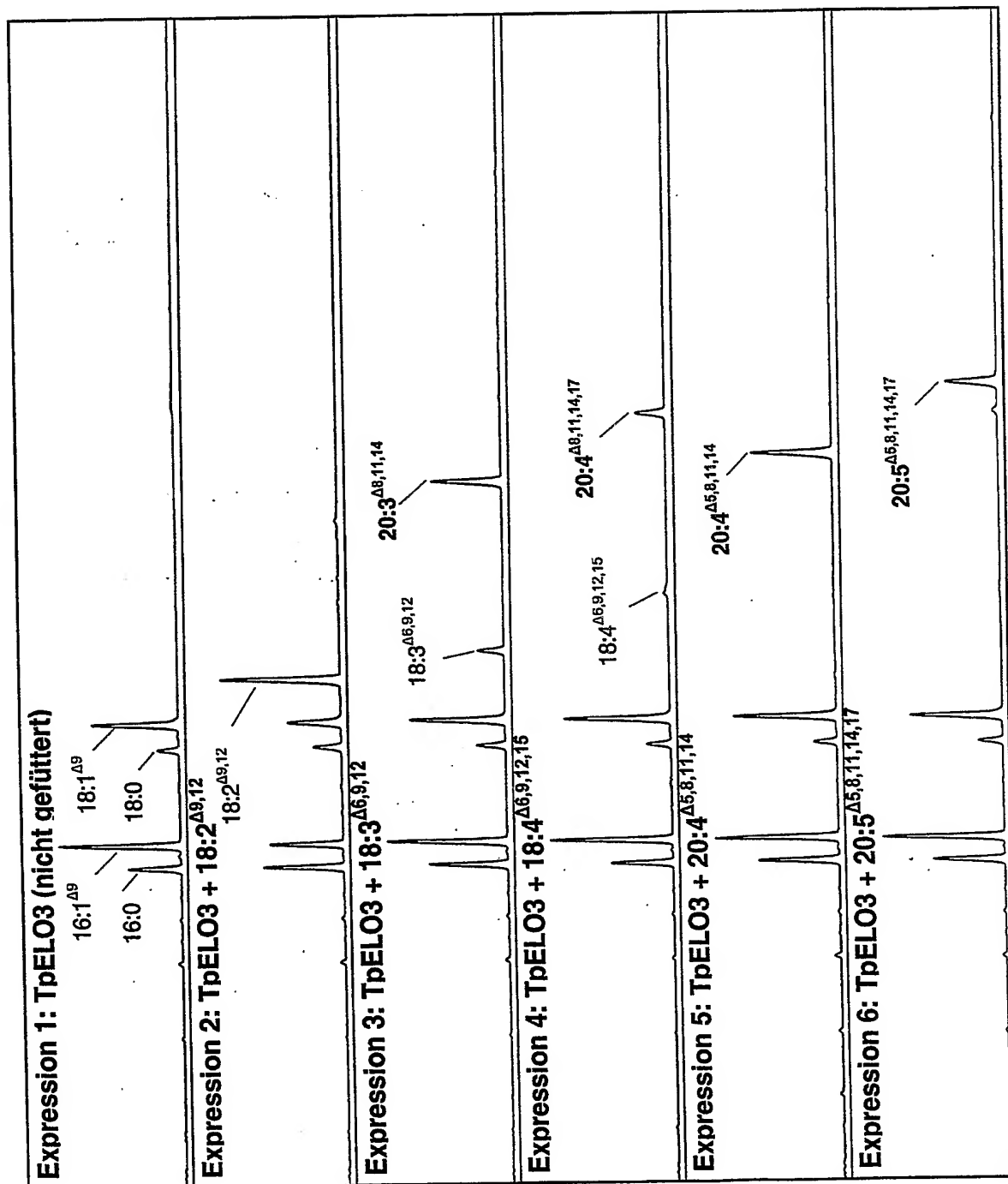


Figur 9: Expression von TpELO1 in Hefe

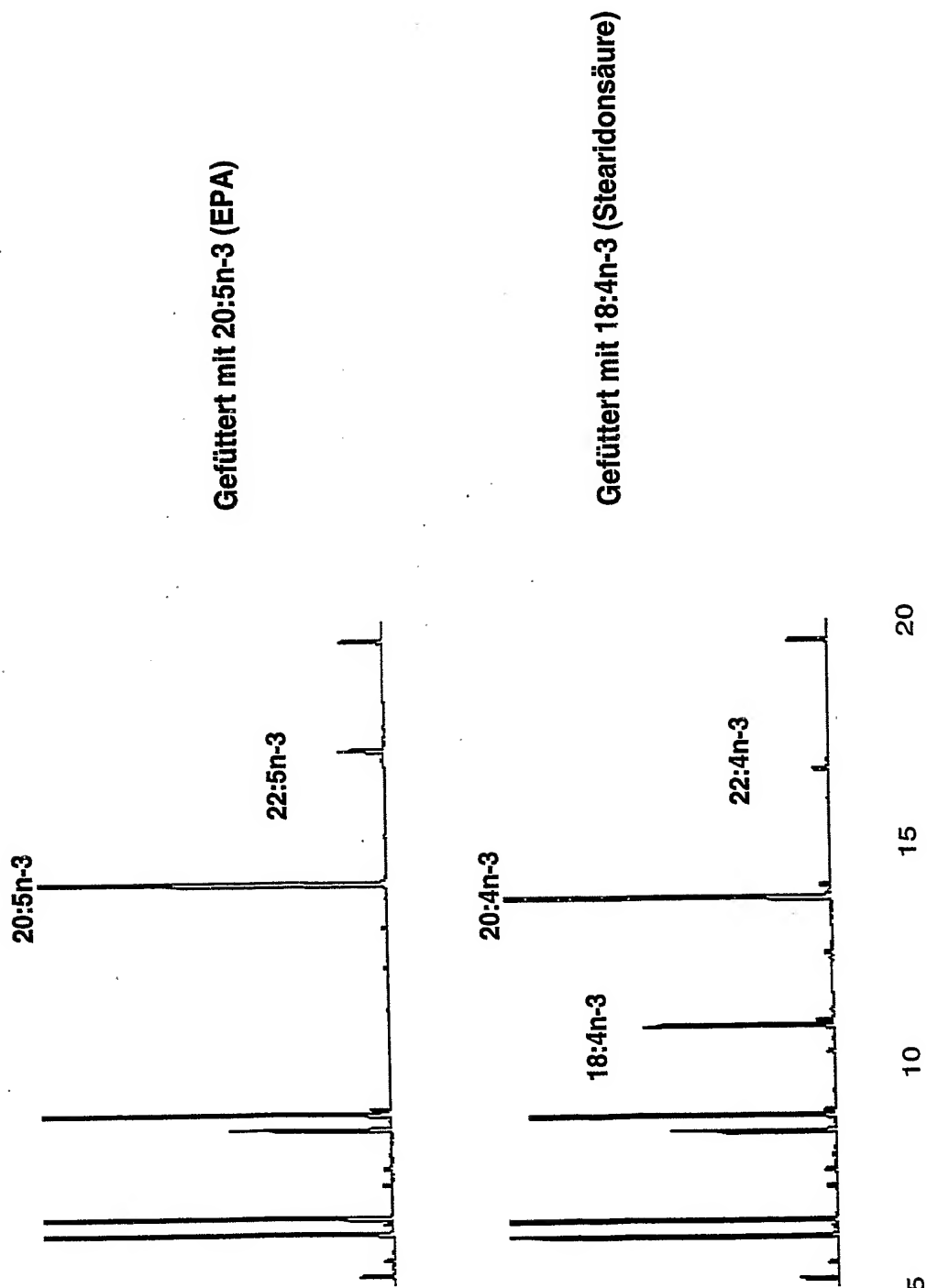


10/19

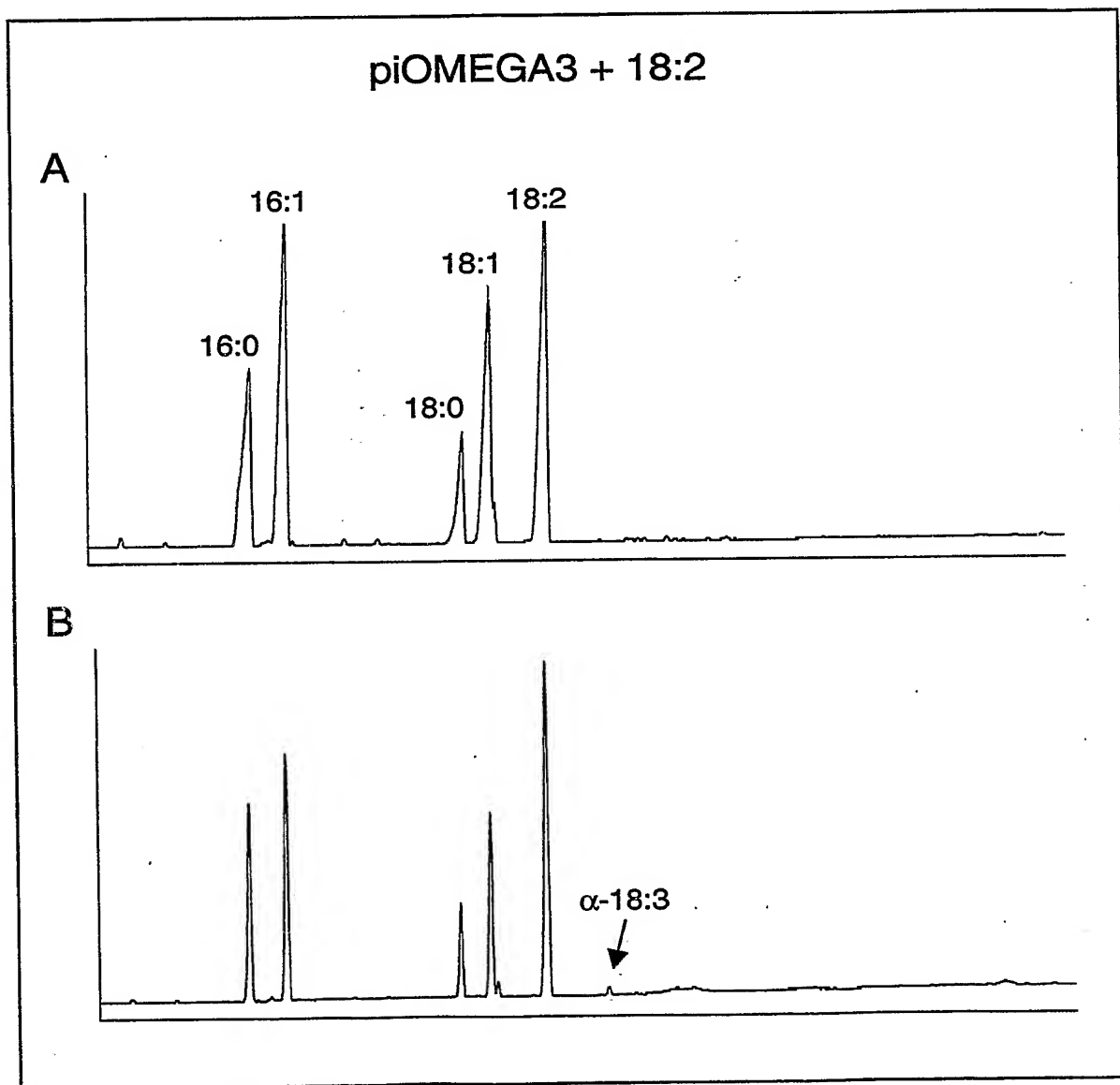
Figur 10: Expression von TpELO3 in Hefe.



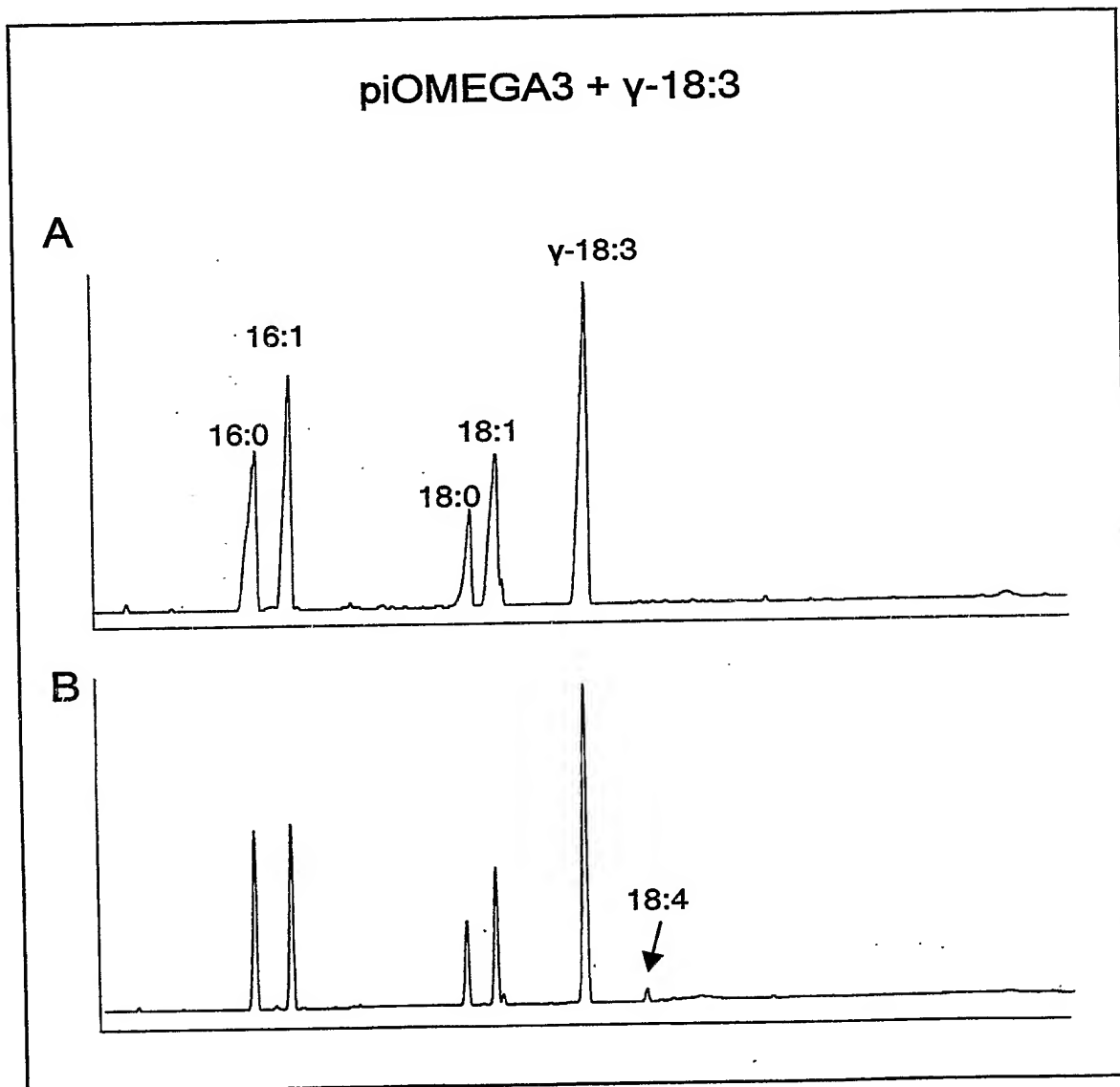
Figur 11: Expression von Thraustochytrium $\Delta 5$ -Elongase TL16/pYES2.1 in Hefe.



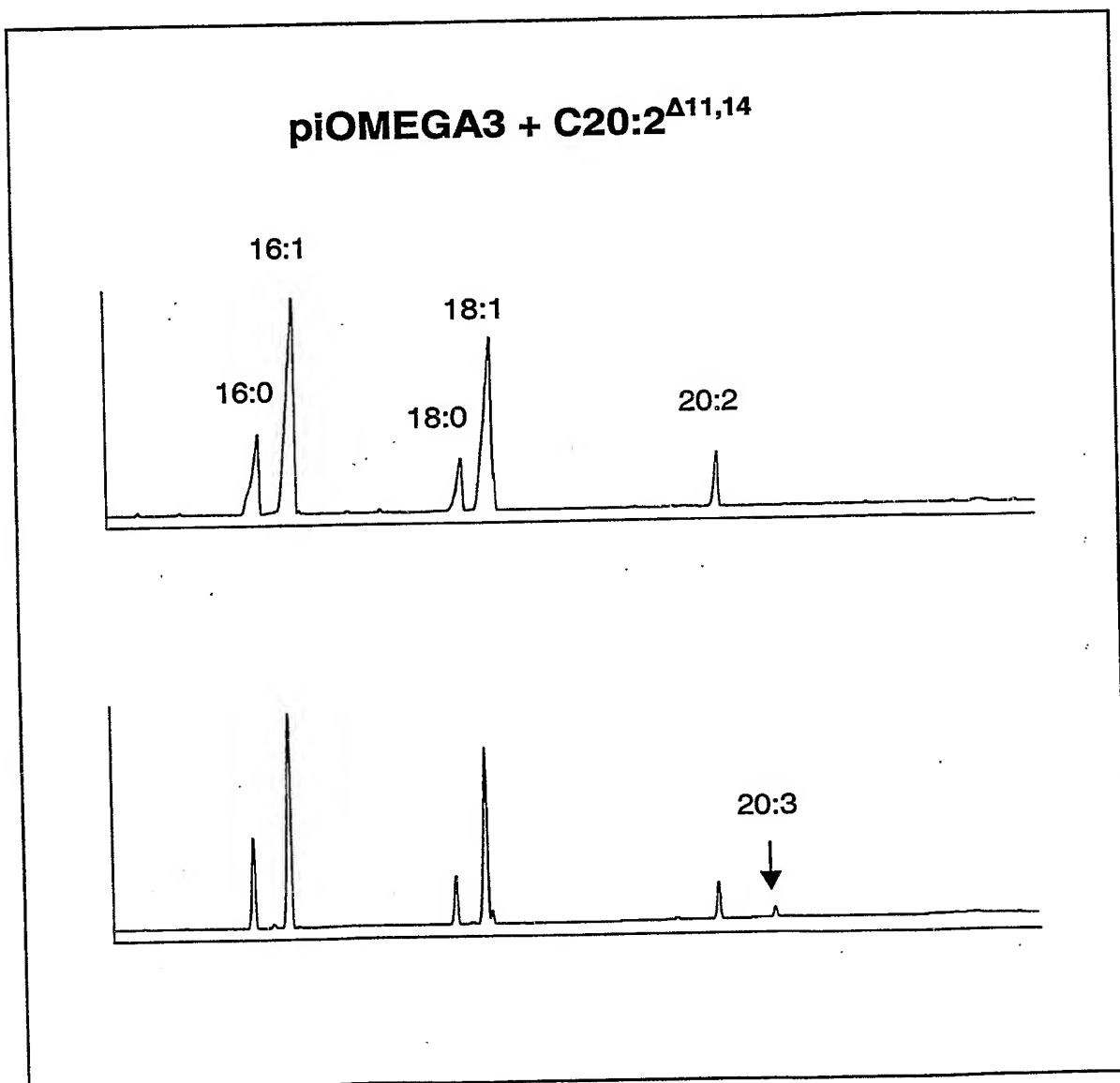
Figur 12: Desaturierung von Linolsäure (18:2 ω -6-Fettsäure) zu α -Linolensäure (18:3 ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.



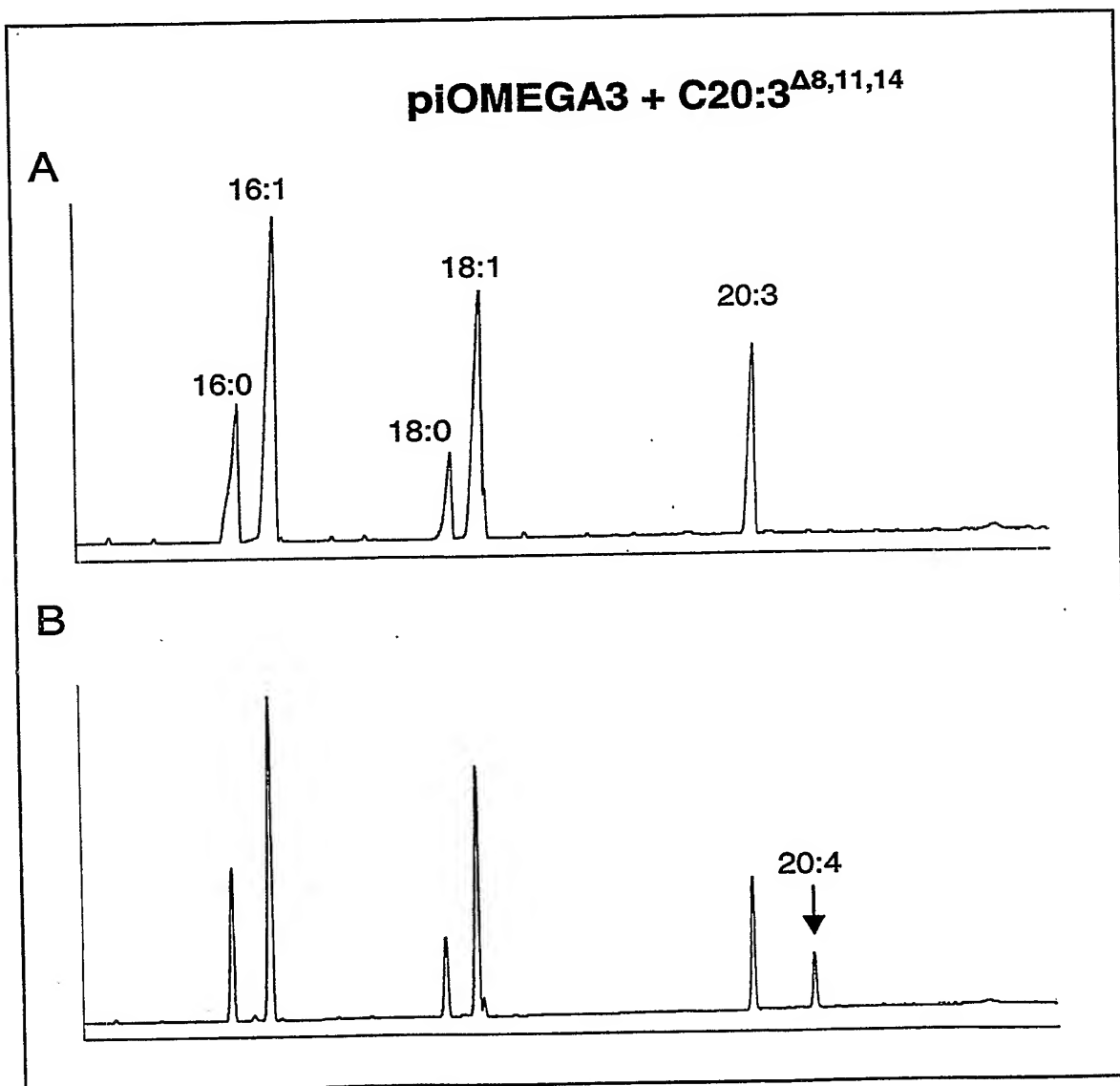
Figur 13: Desaturierung von γ -Linolensäure (18:3 ω -6-Fettsäure) zu Stearidonsäure (18:4 ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.



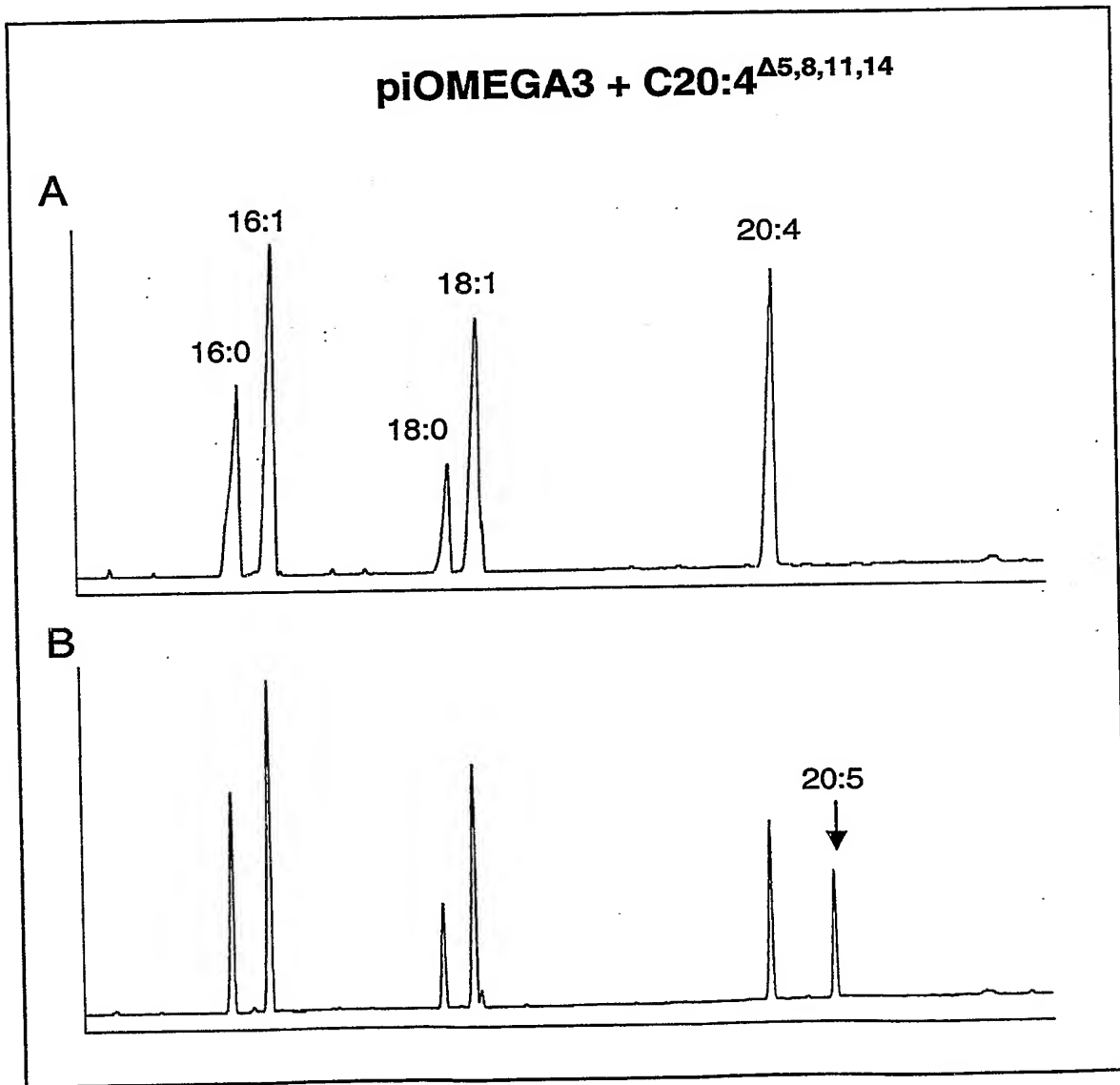
Figur 14: Desaturierung von C20:2 ω -6-Fettsäure zu C20:3 ω -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des.



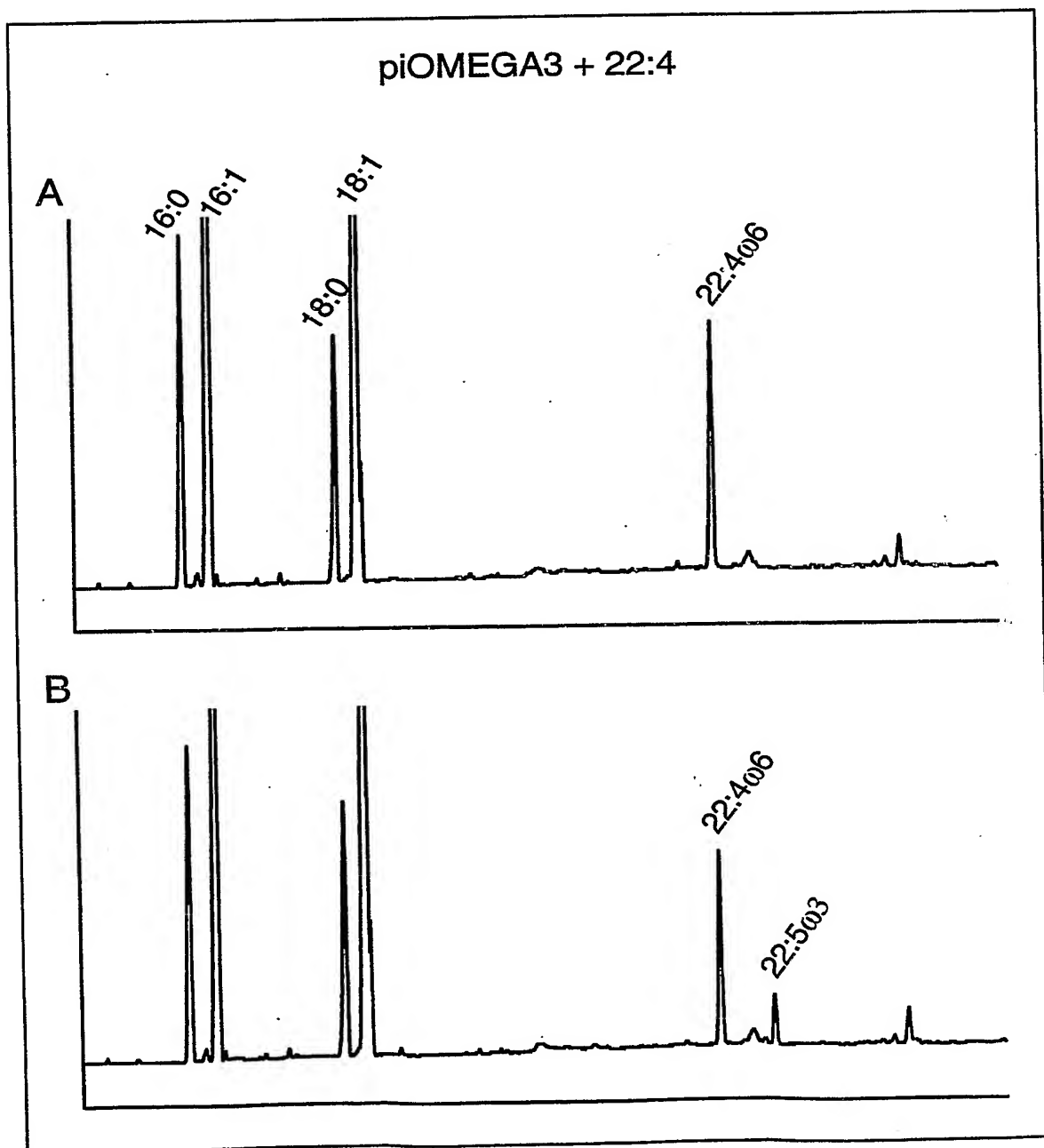
Figur 15: Desaturierung von C20:3- ω -6-Fettsäure zu C20:4- ω -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des.



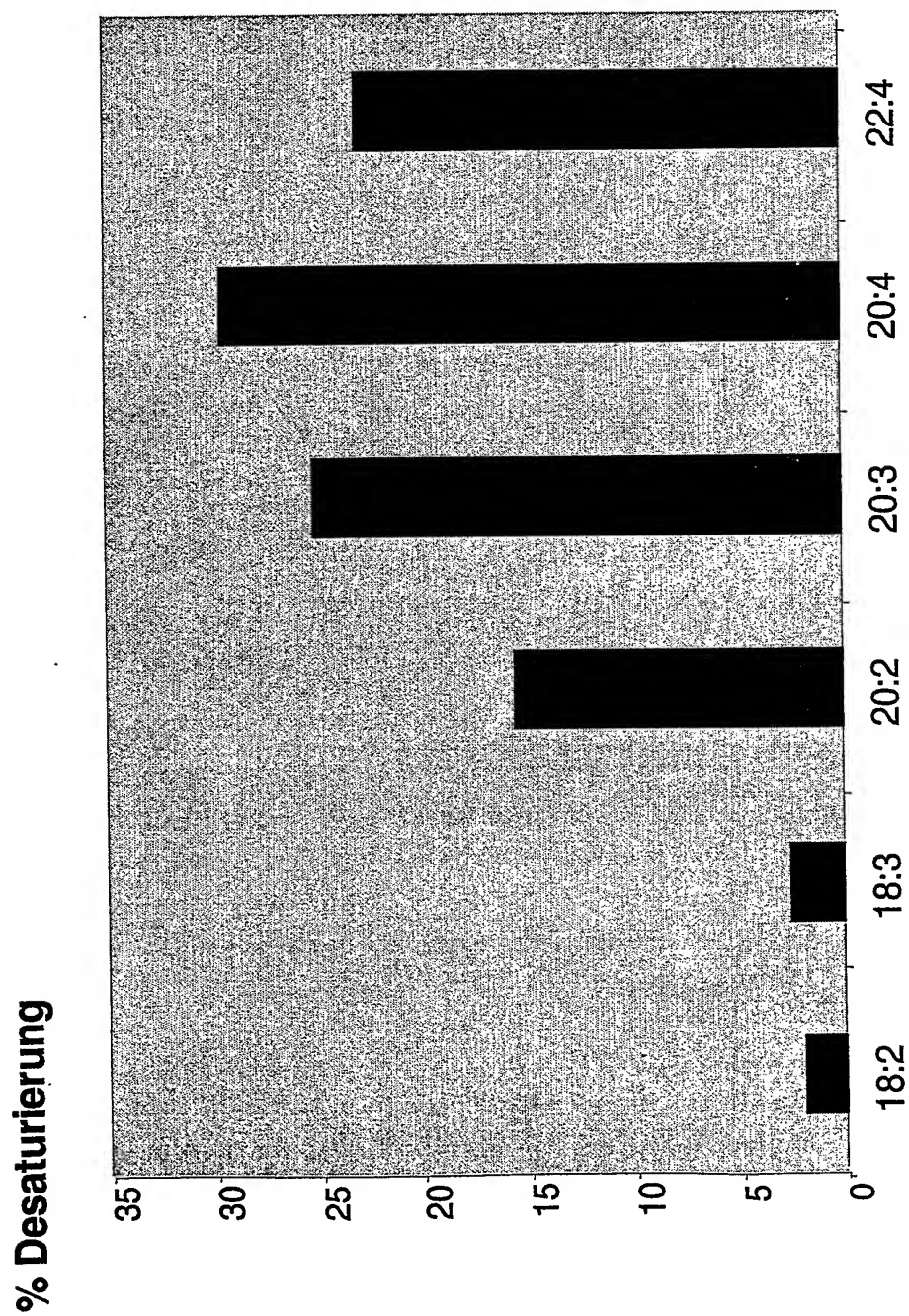
Figur 16: Desaturierung von Arachidonsäure (C20:4- ω -6-Fettsäure) zu Eicosapentaensäure (C20:5- ω -3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des.



Figur 17: Desaturierung von Docosatetraensäure (C22:4- ω -6-Fettsäure) zu Docosapentaensäure (C22:5- ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.



Figur 18: Substratspezifität der Pl-omega3Des gegenüber verschiedenen Fettsäuren



Figur 19: Desaturierung von Phospholipid gebundener Arachidonsäure zu EPA durch die Pi-Omega3Des

